

**Untersuchungen zur
Babesia Musculi-Infektion in der
Laboratoriumsmaus unter besonderer
Berücksichtigung der
Wirtsspezifität und Chemotherapie**

Marie-Luise Nagel

1973
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. J. Boch

Angefertigt unter der Leitung von: Univ. Doz. Dr. H. K. Dennig

UNTERSUCHUNGEN ZUR BABESIA MUSCULI-INFektion IN DER
LABORATORIUMSMAUS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG
DER WIRTSSPEZIFITÄT UND CHEMOTHERAPIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig Maximilians-Universität
München

von
Marie-Luise Nagel
aus
Walsrode (Hann.)

München 1973



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Univ.-Doz. Dr. H.K. Dennig
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. M.-A. Hasslinger

Tag der Promotion: 27. Juli 73

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. E i n l e i t u n g	1
B. L i t e r a t u r ü b e r s i c h t	4
I. Allgemeines über Babesiosen	4
II. Die Präunität und ihre Beeinflussung durch die Splenektomie	6
III. Die verschiedenen Babesienarten der Nagetiere	7
IV. Die Chemotherapie der Nagetierbabesiosen	17
C. E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n	19
I. Material und Methoden	19
1. Parasitenstamm (<i>Babesia musculi</i>)	19
2. Versuchstiere	19
3. Pharmaka	20
4. Splenektomie	21
5. Blutentnahme	21
6. Färbung	21
7. Einstellung des Parasitengehaltes im Inokulum	21
8. Bestimmung des Hämoglobinwertes	22
II. Ergebnisse	23
a) Infektionsverlauf von <i>Babesia musculi</i> bei 80 nicht entmilzten und 80 ent- milzten Mäusen	23
1. Normalwerte der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehaltes bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen	23
2. Verlauf der Parasitämie	23

	Seite
3. Die Erythrozytenzahl im Verlauf der Infektion	27
4. Der Hämoglobingehalt im Verlauf der Infektion	29
5. Klinisches Verhalten von Mäusen bei der Babesia musculi-Infektion	31
6. Mortalität	31
b) Infektionsverlauf nach unterschiedlicher Applikationsart des Parasiten	32
c) Einfluß der Splenektomie auf die latente Babesia musculi-Infektion	33
d) Prüfung der Virulenz von Babesia musculi im Laufe fortgesetzter Passagen	35
e) Wirtsspezifität von Babesia musculi	38
f) Chemotherapie der Babesia musculi-Infektion	40
D. Besprechung der Ergebnisse	44
E. Zusammenfassung (Summary)	57
F. Literaturverzeichnis	61
G. Lebenslauf	71

A. EINLEITUNG

Babesien sind Protozoen, die im Erythrozyten von Säugetieren parasitieren und von Schildzecken (Ixodidae) übertragen werden. Sie zerstören die roten Blutkörperchen und bauen das Hämoglobin ab. Im Gegensatz zu Malariaerregern kommt es bei ihnen zu keiner Pigmentbildung.

Babesien verursachen häufig schwere akute und chronische Erkrankungen. Das Krankheitsbild ist in solchen Fällen durch Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie gekennzeichnet. Todesfälle treten bei der Babesiose des Rindes und Hundes häufig auf, bei den übrigen Tierarten sind sie seltener zu beobachten.

Die Diagnose der Krankheit wird durch den direkten mikroskopischen Nachweis des Erregers oder, in neuerer Zeit, auch auf serologischem Wege gestellt.

Nach Überstehen der Babesiose bildet sich oftmals eine Präimmunität aus.

Die wirtschaftliche Bedeutung von Babesiosen ist bei Haustieren, insbesondere bei Rindern, groß. Trotz wirksamer Chemotherapeutika und Vakzinationsmaßnahmen treten in tropischen und subtropischen Ländern immer noch hohe Verluste auf.

Über die Bedeutung der Babesiose beim Wild, insbesondere bei größeren Wildtierarten, ist wenig bekannt. Umfangreichere Informationen liegen von kleineren, wildlebenden Tierarten, besonders von Nagetierarten, vor. Dies ist dadurch zu erklären, daß diese Tiere im allgemeinen ohne große Schwierigkeiten unter experimentellen Bedingungen gehalten werden können, so daß exakte Untersuchungen möglich sind. Dabei ist von Vorteil, daß die Blutparasiten von wildlebenden Nagern meist auch auf Laboratoriumsnetetierarten übertragbar sind, was eine wesentliche Erleichterung für die Untersuchungen darstellt. In zunehmendem Maße erwiesen sich deshalb die Babesienarten von Nagetieren als Modellparasiten bei der Erforschung der Babesiosen.

Zusätzlich gewannen die Babesien von Nagetieren an Interesse, als 1968 und 1970 Infektionen beim Menschen bekannt wurden, die mit großer Wahrscheinlichkeit Babesienarten von Nagetieren als Ursache hatten.

Die zwei wichtigsten und am ausführlichsten beschriebenen Babesienarten bei Mäusen sind *Babesia rodhaini* und *Babesia microti*.

Babesia rodhaini wurde 1950 aus einer zentralafrikanischen Baumratte (*Thomomys surdaster surdaster*) isoliert und auf die Laboratoriumsmaus übertragen. Diese Babesienspezies war die Grundlage für zahlreiche experimentelle Untersuchungen, die wesentlich zu den heutigen Kenntnissen auf dem Gebiet der Babesiosen beitrugen.

Babesia microti kommt in zahlreichen europäischen Nagetieren vor und konnte ebenfalls auf Laboratoriumsmäuse übertragen werden. Der Parasit erlangte vor allem deshalb eine gewisse Bedeutung, weil er als erste Babesienart des Nagetieres auf Primaten übertragen wurde.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit *Babesia musculi*, einer Babesienart, die 1966 von MURATOV aus der Hausmaus (*Mus musculus* Lin.) isoliert und auf Laboratoriumsmäuse übertragen wurde. Systematische Arbeiten über diese Babesienart, insbesondere im Hinblick auf ihr Infektionsverhalten und ihre chemotherapeutische Resistenz, wurden bisher nur in sehr eng begrenztem Umfang durchgeführt.

Die folgenden Untersuchungen sollten dazu dienen, exaktere und umfassendere Kenntnisse über diese Parasitenart zu erlangen, wobei als Schwergewicht der Untersuchungen folgende Punkte angesehen wurden:

1. Quantitative Untersuchungen über den Infektionsverlauf von *Babesia musculi* in der Laboratoriumsmaus;
2. Das Virulenzverhalten von *Babesia musculi* bei zunehmender

- Zahl von Mäusepassagen;
- 3. Untersuchungen zum Wirtsspektrum von *Babesia musculi*;
- 4. Behandlung der *Babesia musculi*-Infektion.

B. LITERATURÜBERSICHT

1. Allgemeines über Babesiosen

Babesiosen sind Krankheiten, die zur Gruppe der Piroplasmosen gehören. Ihre Erreger, birnförmige, runde oder ovale Protozoen, vermehren sich im Wirtserythrozyten durch zwei- oder vierfache Teilung. Die Tochterindividuen befallen im Laufe ihrer weiteren Entwicklung erneut rote Blutkörperchen, in denen sich der Vermehrungsprozeß wiederholt.

Die Größe der Babesien schwankt zwischen ca. $0,8 - 8 \mu$. Entsprechend ihres Größendurchmessers lassen sich die Parasiten in 3 Gruppen unterteilen:

1. Große Arten von ca. $2,5 \mu$ und darüber;
2. Mittlere Arten von ca. $1,5 \mu - 2,5 \mu$;
3. Kleine Arten von ca. $0,8 \mu - 1,5 \mu$.

Babesien der kleinen Arten wurden früher unter der Gattungsbezeichnung "Nuttallia" eingeordnet.

Babesien durchlaufen sowohl im Wirtstier als auch im Zwischenwirt, der Zecke, einen Entwicklungszyklus. Der Wirtswechsel zwischen Überträger und Hauptwirt scheint für die volle Entfaltung der Pathogenität des Parasiten von Bedeutung zu sein, doch ist damit - im Gegensatz zu den Plasmodien - kein Wechsel zwischen geschlechtlicher (Gametogonie) und ungeschlechtlicher (Schizogonie) Vermehrung verknüpft.

Babesien wurden bei einer Vielzahl von Säugetieren nachgewiesen. Ihre Wirtsskala reicht von den größten bis zu den kleinsten Säugetieren.

Nach Ansicht älterer Autoren galten Babesien als streng wirtsspezifische Parasiten. Diese Vorstellung wurde inzwischen weitgehend revidiert. So konnten beispielsweise *Babesia canis* vom Hund auf den Silberfuchs (SCHÖOP und DEDIE, 1938), und den

Schakal (NUTTAL und GRAHAM-SMITH, 1909; GAYOT, 1946; NEITZ und STEYN, 1947) übertragen werden, *Babesia divergens* auf den Schimpansen und Rhesusaffen (GARNHAM und BRAY, 1959; SHORTT und BLACKIE, 1965), *Babesia capreoli* vom Reh auf Rot- und Damhirsch (ENIGK und FRIEDHOFF, 1963), *Babesia herpailuri* auf Hund und Fuchs (DENNIG, 1967 + 1969), *Babesia galagolata* vom Halbaffen auf den Rhesusaffen sowie auf Ratten, Mäuse und Goldhamster (DENNIG, 1973), *Babesia rodhaini* von der Baumratte auf Baumwoll- und Laboratoriumsratten sowie auf Labormäuse und Goldhamster (van den BERGHE et al., 1950; RODHAIN, 1950; BEVERIDGE, 1953) und *Babesia microti* auf Goldhamster, Laboratoriumsmäuse und den Rhesusaffen (GLEASON et al., 1970).

Bis 1957 lagen keine Informationen über Babesien-Infektionen beim Menschen vor, obwohl Hinweise aus der älteren Literatur eine solche Möglichkeit nicht ausschlossen (HOEFER, 1910).

SKRABALO und DEANOVIC (1957), FITZPATRICK et al. (1968) und GARNHAM et al. (1969) beschrieben dann erstmals Babesiosen beim Menschen. Sie wurden durch *Babesia bovis* und *Babesia divergens* verursacht und verliefen tödlich. SCHOLTENS und Mitarbeiter (1968) berichteten von einer durch Protozoen hervorgerufenen Erkrankung des Menschen, bei der es sich mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls um eine Babesiose - möglicherweise sogar um eine durch Babesien einer Nagetierart bedingten Infektion - handelte. Eine weitere Babesien-Infektion wurde von GLEASON et al. (1970) und WESTERN et al. (1970) beschrieben. Der Erreger konnte aus dem Blut des Patienten isoliert und auf die Labormaus, den Goldhamster und den Rhesusaffen erfolgreich übertragen werden (RISTIC, 1970; RISTIC et al., 1971). Es wird vermutet, daß es sich hierbei um *Babesia microti* handelte (WESTERN et al., 1970).

Die leichte Form der Babesiose zeichnet sich durch uncharakteristische Symptomenkomplexe aus und verläuft vielfach inapparent. Das Krankheitsbild der schweren Babesiose ist durch

Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie gekennzeichnet. Hierbei können Todesfälle auftreten.

Im Anschluß an die akute Babesiose entwickelt sich oftmals ein chronischer Krankheitsverlauf. Die Tiere verenden hierbei meist an den Folgen der Anämie und ihrer Begleiterscheinungen.

Nach Überstehen der Krankheit kann sich eine Prämunität ausbilden, die weitgehenden Schutz gegen Rückfälle bietet.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen einer schweren Babesiose zeigen hämolytische Anämie, Ikterus, Lungenödem, Splenomegalie und hypoxische Degeneration von Herz und Leber. Pathologisch-histologisch treten Hämosiderosis, Vermehrung der Lymphozyten in der Milz und Blutgerinnsel in der fettig degenerierten Leber auf (LEVINE, 1961).

11. Die Prämunität und ihre Beeinflussung durch die Splenektomie

Im Anschluß an die akute Babesiose kann sich im Wirtsorganismus ein besonderer Immunitätszustand entwickeln, den man als Prämunität oder Infektionsimmunität bezeichnet. Die Prämunität ist an die Anwesenheit von Babesien im Organismus gebunden und beruht sowohl auf einer wechselseitigen Toleranz von Wirt und Erreger als auch auf einem labilen Gleichgewichtszustand zwischen beiden.

Die Ursache der Prämunität gründet sich auf Reaktionen des Retikulo-histiozytären Systems in Form einer Hyperplasie und einer vermehrten Produktion humoraler Antikörper (GARNHAM et al., 1963; GARNHAM, 1970; PHILLIPS, 1969). VOGELSANG (1962) vermutet, daß durch die Aktivierung des RHS eine steigende Vermehrungsrate der Blutparasiten verhindert wird. Die Parasiten sind im Prämunitätsstadium in sehr geringer Anzahl im Blut vorhanden, so daß sie sich häufig mikroskopisch nicht mehr oder nur sehr schwierig nachweisen lassen.

Die Milz als zentrales Organ des RHS spielt eine besonders wichtige Rolle im Prämunitätsgeschehen, vor allem durch die zellulär-enzymatische und humorale Abwehr von Krankheitserregern (DUESBERG und GRAMLICH, 1964). Sie besitzt spezielle, differenzierte Zellen, die sog. qualitative Zellen, die sowohl für die Phagozytose als auch für die Antikörperproduktion geeignet sind (GARNHAM et al., 1963). Mit diesem Abwehrmechanismus greift die Milz, besonders bei Blutparasitosen, aktiv in den Vermehrungsprozeß des Parasiten ein.

Die Splenektomie prämuner Tiere hat meistens ein Aufkommen der latenten Infektion zur Folge (KIKUTH, 1927; HIRSCHFELD und FABISCH, 1928; DENNIG, 1965). Das Gleichgewicht zwischen Organismus und Erreger wird durch die Milzexstirpation und Stresswirkung der Operation zugunsten des Parasiten in der Form verschoben, daß es meist zu einer starken, häufig auch hemmungslosen Vermehrung desselben kommt. Die Splenektomie wird in der experimentellen Protozoologie zur Erhöhung der Infektionsbereitschaft der Versuchstiere durchgeführt. Bei Versuchen mit Blutparasiten muß in vielen Fällen ein einheitliches, entmilztes Tiermaterial verwendet werden, damit die Krankheit unter gleichmäßigen, deutlichen und typischen Symptomen ablaufen kann. Bei nicht entmilzten Versuchstieren ist dies nicht der Fall. Bei ihnen kommt es meist zu Unregelmäßigkeiten während des Infektionsablaufes, die sich insbesondere in der Qualität der Infektion äußern. Damit kann die Splenektomie als eine Methode der Standardisierung von Versuchstieren angesehen werden, die es erlaubt, das Verhalten bestimmter Blutprotozoen und die durch sie verursachten Krankheitsbilder in extremer Form zu studieren (DENNIG, 1965).

III. Die verschiedenen Babesienarten der Nagetiere

Babesia muris wurde von FANTHAM (1905, 1906) in England in der Wanderratte (*Rattus norvegicus*) entdeckt. Sie tritt vor-

nehmlich in ovalen Formen mit einem Durchmesser von ca. 0,5 - 1,5 μ und in paarigen Birnformen mit einer Länge von ca. 2 - 3 μ und einer Breite von ca. 1 - 1,5 μ auf. Die Vermehrung erfolgt durch Zweiteilung.

NICOLLE (1907) isolierte Babesia quadrigemina aus dem Blut eines nordafrikanischen Gundi (*Ctenodactylus gundi*). Das adulte Stadium des Parasiten ist vorwiegend durch runde oder ovale, selten durch Birnformen charakterisiert. Gelegentlich werden auch komma- oder streifenartige Formen festgestellt. Ihre Größe beträgt 6 - 8 μ . Die Vermehrung erfolgt durch vierfache Teilung.

Babesia avicularis wurde erstmals von WENYON (1909) im Sudan in der Zebramaus (*Arvicanthis zebra*) beobachtet. Der Parasit zeigt entweder eine birnförmige Gestalt und ähnelt damit *Babesia canis* und *Babesia bigemina* oder eine amoeboide Form. Angaben zur Größe des Parasiten fehlen.

DSCHUNKOWSKI und LUHS (1910) wiesen Babesia leporis in Transkaukasien im Hasen nach. Der Parasit stellt sich in runder, ovaler, amoeboider oder stäbchenartiger Form dar. Birnformen fehlen (Zitiert nach REICHENOW, 1953).

Babesia colesi wurde von COLES (1914) in England aus dem Blut einer Feld-Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*) isoliert. Der Parasit ist entweder rund oder oval und hat eine Größe von ca. 1 - 3 μ . Selten werden birnförmige Babesien festgestellt. Die Teilungsformen gleichen "Brotlaiben" oder "dreiblättrigen Kleeblättern".

MACFIE (1915) fand Babesia decumani im Blut einer Wanderratte (*Mus decumanus*). Der Parasit ist von ringartiger, siegelringförmiger oder amoeboider Gestalt. Das Chromatin kann körnchenförmig sein oder zahlreiche Fortsätze bilden. Das Cytoplasma ist vakuolisiert und zeigt fadenförmige Ausläufer. Die Teilungsformen liegen kreuzartig zusammen.

Babesia golundae wurde in Senegal von LEGER und BEDIER (1923) in der Streifenmaus (*Golunda campaneae*) entdeckt. Der ringförmige Parasit hat einen Durchmesser von ca. $1,2 - 1,7 \mu$. Die ovalen oder birnförmigen Babesien sind ca. $2,5 \mu$ lang. Selten tritt eine Zweiteilung auf, häufiger werden vier lanzettartige Tochterzellen festgestellt.

FRANCHINI (1924) beobachtete erstmals Babesia myoxi im Blut einer Haselmaus (*Myoxus avellanarius*). Der Parasit erscheint im roten Blutkörperchen hauptsächlich in runder, ovaler und birnförmiger, seltener in amoeboider und "zigarrenähnlicher" Gestalt. Runde und ovale Formen haben einen Durchmesser von ca. $0,7 - 2,5 \mu$. Bei den "zigarrenartigen" Parasiten beträgt die Länge 3μ und die Breite $1 - 1,5 \mu$. Die Vermehrung der Babesien erfolgt durch Zweiteilung, der unmittelbar danach eine weitere Teilung folgt. Junge Parasiten ordnen sich häufig in Kreuzformationen an.

Babesia rattii wurde von SCHWETZ und COLLART (1930) in Zentralafrika in der Vielzitzenratte (*Mastomys ugandae*) und der Kusu-Grasratte (*Arvicanthis abyssinicus rubescens*) nachgewiesen. Die Mehrzahl der Parasiten ist rund mit einem Durchmesser von $1,2 - 2 \mu$. *Babesia rattii* ähnelt sowohl *Babesia decumani* als auch *Babesia avicularis*, ist aber nach LEVINE (1971) nicht mit diesen identisch.

GALLI-VALERIO (1930) fand Babesia eliomyisci im Gartenschläfer (*Eliomys quercinus*), (zitiert nach LEVINE, 1971). Eine morphologische Beschreibung des Parasiten war nicht zu erhalten.

Babesia kolzovi wurde von ZASUKHIN (1931) im Zwerg- oder Grauziesel (*Citellus pygmaeus* Pallas) entdeckt. Der Parasit kommt entweder extra- oder intraerythrozytär vor. Seine Gestalt ist meist lanzettförmig und weist eine Größe von $3 - 5 \mu$ auf. Sehr häufig werden auch birnförmige Babesien be-

obachtet. Bei Doppelbirnformen überwiegen spitze Teilungswinkel. Gelegentlich wurden auch amoeboide und netzartige Formen gefunden.

BECKER und ROUDABUSH (1934) isolierten Babesia citelli aus dem Blut des Streifenziegels (*Citellus tridecemlineatus*). Vorherrschend sind große und kleine Ringformen von 1 - 2,5 μ . Die Mehrzahl der Vertreter dieser Spezies hat zwei Kerne, die dicht nebeneinanderliegen. Es treten auch schmale, bandartige Parasiten auf, die sich quer über den Erythrozyten erstrecken und einen länglichen Kern besitzen. Gelegentlich sind große, birnförmige, dicke, stabförmige und "tennisschlägerartige" Formen zu beobachten. Der Kern ist kompakt und liegt meist in Nachbarschaft einer Vakuole. Vereinzelt treten kleine Kerne auf, von denen sich ein oder zwei Protoplasmafäden abzweigen. Amoeboide Formen wurden selten festgestellt.

Babesia cricetuli wurde von SPRINHOLZ-SCHMIDT (1937) im dauerischen Zwerghamster (*Cricetulus furunculus*) gefunden. Runde und ovale Formen haben eine Größe von 1,2 - 2 μ , birnförmige haben eine Länge von 2,2 - 2,4 μ und eine Breite von 1,1 - 1,5 μ . Gelegentlich treten Malteserkreuzformen auf.

SPRINHOLZ-SCHMIDT (1937) entdeckten außerdem Babesia yaki-movi im sibirischen Streifenhörnchen (*Eutamias asiaticus orientalis*). Runde Formen sind 1 - 1,2 μ groß. Das Chromatin des Kernes ist kompakt und bildet einen Halbmond. Ovale, komma- und stäbchenartige Formen haben eine Größe von 0,9 - 3 μ . Vereinzelt treten Kreuzformationen auf.

Babesia tucutucoi wurde von CARINI (1941) in Brasilien in der Kammratte (*Ctenomys (tuco-tuco)*) festgestellt. Die Parasiten sind hauptsächlich rund mit einem Durchmesser von 1,5 - 2 μ . Selten treten ovale Formen auf, deren Größe ca. 3 μ beträgt. Weder birnförmige Babesien noch Malteserkreuzformen wurden beobachtet. Die Vermehrung erfolgt durch Zweiteilung, bei der

es kurz zuvor zu einer Streckung des Parasiten kommt.

ROUSSELOT (1947) beobachtete Babesia taterae in Persien in einer indischen Nackt-Schlen-Rennmaus (*Tatera indica*) (zitiert nach LEVINE, 1971).

TOMLINSON und Mitarbeiter (1948) entdeckten Babesia wrighti im Felsenziegel (*Citellus variegatus buckleyi*) (zitiert nach LEVINE, 1971).

Die beiden letztgenannten Arbeiten waren mir nicht zugänglich.

ROUSSELOT (1949) wies Babesia lemniscomysi in der afrikanischen Streifen-Grasmaus (*Lemniscomys striatus*) nach. Der Parasit tritt in runder, ovaler und amoeboider Form auf.

Babesia graingeri wurde von HEISCH (1952) in Kenia im Erdhörnchen (*Euxerus erythropus fulvior*) festgestellt. Der Parasit ist vielgestaltig. Seine Größe schwankt zwischen 3,5 - 8,3 μ . Das Cytoplasma teilt sich in eine unterschiedliche Anzahl von dünnen, unregelmäßigen Fortsätzen, die ein netzartiges Muster bilden. Der Kern besteht entweder aus einer kompakten Masse oder aus zahlreichen zirkulären, ovalen oder stäbchenförmigen Chromatinstückchen. Oftmals treten Ringformen in einer Größe von 3 - 5 μ auf. Die Vermehrung erfolgt durch vierfache Teilung.

Babesia taterillae wurde von ROUSSELOT (1953) aus einer Rennmaus (*Taterillus emini*) isoliert. Die Größe der Parasiten schwankt zwischen 0,5 - 1 μ . Vornehmlich herrschen runde oder ovale, seltener elliptische und amoeboider Formen vor. Vereinzelt liegen Malteserkreuzformen vor.

MANWELL und KUNTZ (1964) beobachteten Babesia bandicooti im Blutausschlag einer indischen Bandikutratte (*Bandicota indica nemorivaga*). Die Spezies hat - nach Angaben der Autoren - große Ähnlichkeit mit *Babesia wrighti*, ist aber nach LEVINE (1971) nicht mit dieser identisch.

Babesia hyalomysci wurde von BAFORT und Mitarbeiter (1970) im Blut der Baummaus (*Hyalomyscus stella*) im Kongo entdeckt. Der Parasit tritt in verschiedenen Formen auf, wobei die Ringform eine malariaähnliche Gestalt aufweist. Seine Größe beträgt 1 - 4 μ . Neben amoeboiden kommen auch schlanke Formen vor, deren Cytoplasma "bizarre" und eigenartige Fortsätze bildet. Die Babesie teilt sich sowohl in zwei als auch in vier Tochterindividuen.

Die zwei bekanntesten und am ausführlichsten untersuchten Babesienarten der Nagetiere sind *Babesia rodhaini* und *Babesia microti*. Über die Artidentität bzw. Artverschiedenheit bestehen unterschiedliche Auffassungen. So vertritt LEVINE (1971) die Ansicht, daß beide Spezies miteinander identisch sind, während COX und YOUNG (1969) beide Parasitenarten aufgrund morphologischer Unterschiede und GOURLAY und Mitarbeiter (1970) wegen des verschiedenen Proteinmusters voneinander trennen.

Babesia rodhaini wurde 1950 von van den BERGHE et al. in Belgisch-Kongo in der Baumratte (*Thamnomys surdaster surdaster*) entdeckt. Der Überträger des Parasiten ist unbekannt. Detaillierte Untersuchungen des Blutparasiten liegen von van den BERGHE et al. (1950), BEVERIDGE (1953) und NOWELL (1969) vor. *Babesia rodhaini* tritt vorwiegend in Ringformen in einer Größe von 2,7 - 3,6 μ auf. Jugendliche Formen sind häufig birnförmig und haben eine Größe von 1,8 - 2,7 μ . Daneben kommen auch amoeboide Formen vor. Die Vermehrung erfolgt durch Vierteilung. Die häufig kreuzförmig angeordneten Teilungsformen sind klein und länglich mit einer Größe von 1,8 auf 0,9 μ .

Nach FLEWETT und FULTON (1959) und RUDZINSKA und FRAGER (1960, 1962), die sich eingehend mit der Ultrastruktur des Parasiten beschäftigten, ist das Plasma von *Babesia rodhaini* von einer einzigen, dünnen Grenzmembran umgeben. Typische

Mitochondrien fehlen. Im Cytoplasma werden häufig Nahrungsvakuolen nachgewiesen, deren Struktur dem Erythrozytenplasma ähnlich ist. Es ist schwierig, allgemein gültige Angaben über den Verlauf einer *Babesia rodhaini*-Infektion zu machen, da sich seit Isolierung des Parasiten seine Virulenz im Laufe fortgesetzter Passagen hochgradig gesteigert hat und deshalb - je nach verwendetem Stamm - unterschiedliche Beobachtungen vorliegen. Während bei den Untersuchungen von van den BERGHE et al. (1950) die mit *Babesia rodhaini* infizierten Laboratoriumsmäuse die Infektion im allgemeinen überlebten, berichteten PAGET und Mitarbeiter (1962), daß ihr Parasitenstamm im Laufe fortgesetzter Mäuse-Passagen so virulent geworden war, daß er bei der Mehrzahl der Tiere schon nach 4 Tagen zum Tode führte.

Trotz des unterschiedlichen Virulenzverhaltens des Erregers kann der Verlauf einer *Babesia rodhaini*-Infektion als charakteristisches Beispiel für den Ablauf einer Babesiose angesehen werden.

Die Präpatenzzeit, die von der Höhe des Inokulums abhängt, beträgt bei hohen Infektionsdosen ca. 1 - 2 Tage (NOWELL, 1969), bei niedrigen bis zu 10 Tagen (van den BERGHE et al., 1950). Der Höhepunkt der Parasitämie liegt zwischen dem 6. - 13. Tag p.i. und weist in Mäusen Maximalwerte zwischen 100 % - 900 % und 100 % - 600 % in Ratten auf (van den BERGHE et al., 1950; BEVERIDGE, 1953), wobei diese Werte ebenfalls in enger Beziehung zur Infektionsdosis stehen (NOWELL, 1969).

Babesia rodhaini-Infektionen verursachen häufig den Tod des Wirtes. Bei Überlebenden Tieren kann sich die Parasitenzahl auf Werte verringern, die auf mikroskopischem Wege schwer zu erfassen sind. COLAS-BELCOUR und VERVERT (1953) sowie COX und YOUNG (1969) stellten fest, daß sich beim Überstehen der Krankheit eine sterile Immunität ausbilden kann.

Zum Zeitpunkt der höchsten Parasitenzahl werden Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie beobachtet (RODHAIN, 1950; ROD-

HAIN und DEMUYLDER, 1951; SCHROEDER et al., 1966; PHILLIPS, 1968; NOWELL, 1969).

Das pathologisch-anatomische Bild ist bei stark infizierten Tieren durch Splenomegalie, dunkle Verfärbung und brüchige Konsistenz der Milz gekennzeichnet (van den BERGHE et al., 1950). Mikroskopische Untersuchungen der Milz zeigen, daß sowohl infizierte als auch nicht infizierte rote Blutkörperchen von Makrophagen des RHS phagozytiert werden (SCHROEDER et al., 1966). Histologische Arbeiten von PAGET und Mitarbeitern (1962) weisen darauf hin, daß es im Laufe der Infektion in der Milz zu einem bemerkenswerten Anstieg der Phagozyten, Retikulum- und Riesenzellen sowie zu Mitosen in zahlreichen Zelltypen kommt.

Das pathologische Blutbild von stark infizierten Mäusen ist durch sehr niedrige Erythrozytenzahlen (1.8 Mill./mm^3) und Hämoglobinwerte (15 %) charakterisiert (van den BERGHE et al., 1950).

Babesia microti wurde von FRANCA (1910) in England erstmals in der Feldmaus (*Microtus incertus*) entdeckt. Einige Jahre später isolierte COLES (1914) *Babesia microti* auch aus der Wasserratte (*Microtus amphibicus*). Die Protozoen konnten seither in zahlreichen anderen Nagetierarten nachgewiesen werden (LEVINE, 1971).

Die Mehrzahl der Babesien erscheint als Siegelringformen, deren Durchmesser 1 - 2,5 μ beträgt. Daneben sind auch ovale, seltener birnförmige Parasiten zu finden.

Die Vermehrung erfolgt durch Zwei- und Vierteilung (COLES, 1914; SHORTT und BLACKIE, 1965).

Nach MOLYNEUX und BAFORT (1970) sowie MACMILLAN und Mitarbeitern (1969), MACMILLAN und BROCKLESBY (1971) ist *Babesia microti* von einer einfachen Grenzmembran umgeben. Im Cytoplasma des Parasiten können sich Nahrungsvakuolen befinden, die mit Erythrozytensubstanz gefüllt sind. Typische Mitochondrien fehlen.

Der Infektionsverlauf von *Babesia microti* zeigt in der Laboratoriumsmaus - wie bei *Babesia rodhaini*-Infektionen - das klassische Bild einer Babesiose. Die Präpatenzzeit ist abhängig von der Zahl der übertragenen Parasiten und beträgt 1 - 8 Tage (NOWELL, 1969). Nach 10 - 15 Tagen p.i. erreicht die Parasitämie im allgemeinen ihren Höhepunkt, der bei nicht entmilzten Mäusen zwischen 200 % - 500 % und bei entmilzten zwischen 400 % - 700 % liegt (IRVIN und BROCKLESBY, 1969; COX und YOUNG, 1969). Trotz hoher Befallsdichte treten selten Todesfälle auf. Ca. 3 Wochen nach dem Maximum der Parasitämie können die Parasiten aus dem peripheren Blut verschwinden und über lange Zeit hinweg inapparent bleiben. Die Versuche von SHORTT und BLACKIE (1965) und IRVIN und BROCKLESBY (1969) zeigen, daß nach dem Überstehen der Infektion gelegentlich Babesien auch weiterhin in mehr oder weniger starker Anzahl im Blut verbleiben können.

Zum Zeitpunkt der höchsten Befallsdichte treten Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie auf (SHORTT und BLACKIE, 1965).

Das pathologisch-anatomische Bild zeigt nach SHORTT und BLACKIE (1965) bei stark infizierten Tieren Splenomegalie und dunkle Verfärbung sowie brüchige Konsistenz der Milz. Mikroskopische Untersuchungen der Leberzellen weisen auf fettige Degeneration und trübe Schwellung hin.

Das pathologische Blutbild ist nach SHORTT und BLACKIE (1965) bei *Babesia microti*-Infektionen durch Anämie, Hydrämie und Anisozytose charakterisiert. Besonders zahlreich treten hierbei Makrozyten auf. Bei hohem Parasitenbefall kann sich die Erythrozytenzahl auf 2 Mill./mm³ und das Hämoglobin auf 20 % verringern.

Babesia musculi wurde 1966 von MURATOV in Rußland bei der Hausmaus (*Mus musculus* Lin.) nachgewiesen und auf Laboratoriumsmäuse übertragen.

Über den Parasiten liegen bisher nur wenige Untersuchungen vor. Sie beschränken sich hauptsächlich auf seine Morphologie, die Klassifizierung der Spezies (MURATOV, 1966; NADYROV) sowie auf eine kurze Analyse der Proteinstruktur (GOURLAY et al., 1970).

Babesia musculi ist rund, oval oder amoeboïd. Daneben kommen auch birnförmige Babesien vor, die entweder vereinzelt oder paarig liegen. Paarige Formen sind hierbei nicht mit ihren spitzen Enden zueinander sondern parallel nebeneinander gelagert. Runde oder ovale Formen haben eine Größe von 1 - 3 μ . Bei birnförmigen und amoeboïden Babesien schwankt die Größe zwischen 4 - 6 μ .

Die Vermehrung des Parasiten erfolgt durch Vierteilung. Die spindelförmigen Teilungsformen bilden häufig eine Kreuzformation. Sie haben eine Größe von 1,2 x 1,4 x 0,8 μ . In der Mehrzahl befällt nur ein einziger Parasit den Erythrozyten. Gelegentlich werden 4 - 6, ausnahmsweise bis zu 11 Teilungsformen im roten Blutkörperchen beobachtet (MURATOV, 1966). Regelmäßig sind extraerythrozytäre Babesien nachweisbar.

Die Präpatenzzeit beträgt nach MURATOV (1966) 1 - 21 Tage. Das Maximum der Befallshöhe kann 500 % und mehr betragen.

Babesia musculi wurde auf Kälber, junge Hunde, Kaninchen, Turkestan Ratten, Springmäuse, Erdhörnchen und weiße Mäuse übertragen. Weiße Laboratoriumsmäuse (*Mus musculus* var. alb.) und Erdhörnchen (*Spermophilopsis leptodactylus*) erwiesen sich als empfänglich (MURATOV, 1966).

IV. Die Chemotherapie der Nagetierbabesiosen

Im Laufe der letzten 20 Jahre wurde die Wirksamkeit zahlreicher Chemotherapeutika bei *Babesia rodhaini*- und *Babesia microti*-Infektionen geprüft. Diese Untersuchungen zielten weniger auf die Heilung infizierter Laboratoriumstiere ab als vielmehr auf die Erprobung chemischer Verbindungen im Hinblick auf die Behandlung von Nutztieren.

RODHAIN stellte 1951 fest, daß Acaprin, Trypanblau und Propamidin nur eine geringe Wirkung auf *Babesia rodhaini* infizierte Mäuse hatte. BEVERIDGE (1953) prüfte in "screening"-Tests Antibiotika, Amidine, Acridine und Acaprin. Aureomycin, Penicillin, Streptomycin und Propamidin zeigten keinen, Terramycin (100 - 200 mg/kg, 5 Applikationen) und Pentamidin (20 - 50 mg/kg, 5 Verabreichungen) nur einen schwachen Effekt. Durch Stilbamidin (25 - 30 mg/kg, 5-mal appliziert), Phenamidin (30 - 50 mg/kg, 5-mal verabreicht) und Acriflavin (5 - 10 mg/kg, 5 Applikationen) konnte die *Babesia rodhaini*-Infektion geheilt werden. Acaprin (2,5 mg/kg, 5 Verabreichungen) beeinflusste nur geringgradig den Infektionsverlauf. 1956 wies BEVERIDGE darauf hin, daß Phenanthridin-Verbindungen erfolgreich gegen *Babesia rodhaini*-Infektionen in Mäusen waren, sofern sie eine ähnliche chemische Struktur wie Chemotherapeutika gegen Trypanosomiasis aufwiesen.

TAYLOR et al. (1956) erprobten verschiedene Antimalariamittel wie Resochin (Chloroquin diphosphat), Atebrin (Mepacrin hydrochlorid), Plasmochin (Pamaquin), Paludrin (Proguanil) und Daraprim (Pyrimethamin) sowie Berenil und Ethidium-bromide (Homidium bromide) bei *Babesia rodhaini*-Infektionen. Ihre Versuche ergaben, daß alle Antimalariamittel wirkungslos blieben. Berenil und Ethidium-bromide konnten hingegen die Infektion heilen, sofern sie in Maximaldosen (Berenil: 50 mg/kg, Ethidium-bromide 20 mg/kg, jeweils 4 Verabreichungen) gegeben wurden.

RYLEY (1957) kam bei der Beurteilung von Antimalariamitteln (Resochin, Atebrin, Paludrin und Daraprim), die bei *Babesia rodhaini*-Infektionen angewendet wurden, zum gleichen Ergebnis. Im Gegensatz zu RODHAIN (1951) stellte RYLEY (1957) fest, daß Acaprin (0,01 mg/kg pro Maus/Tag, 3-malig verabreicht) die Infektion heilen konnte.

1960 prüfte LUCAS Diampron, eine Verbindung aus der Reihe der Diamidine. Das Medikament bewirkte, daß bei 0,0058 mg/g (ED_{50}) die mit *Babesia rodhaini* infizierten Mäuse in wenigen Tagen frei von Parasiten waren. COX und YOUNG (1969) führten mit einer einzigen Dosis Diampron (40 mg/kg) eine vollständige Heilung von *Babesia rodhaini*- sowie von *Babesia microti*-Infektionen herbei.

Ein weiteres Präparat der Diamidin-Gruppe, Imidocarb, wurde von SCHMIDT et al. (1969) und BEVERIDGE (1969) an Mäusen und Ratten mit *Babesia rodhaini*-Infektionen erprobt. Die Autoren stellten fest, daß bei den Versuchstieren schon wenige Tage nach s.c.-Verabreichung von 30 mg/kg bzw. 5 - 15 mg/kg keine Parasiten mehr im Blut nachweisbar waren.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methoden

1. Parasitenstamm (*Babesia musculi*)

Babesia musculi ist ein Laborstamm des Institutes für Vergleichende Tropenmedizin und wird auf splenektomierten Mäusen gehalten.

2. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden ausschließlich weibliche Mäuse, Ratten, Goldhamster, Meerschweinchen und Wüstenspringmäuse verwendet. Während des Versuches wurden sie unter einheitlichen und gleichbleibenden Bedingungen bei konstanter Raumtemperatur (22° C) und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40 - 50 % gehalten. Futter ("Sniff", Intermast, Soest) und Wasser bekamen die Tiere ad libitum. Goldhamster, Meerschweinchen und Wüstenspringmäuse erhielten zusätzlich Haferflocken, Karotten, Äpfel und Sonnenblumenkerne.

a) Die Mäuse (NMRI-Stamm, Ivanovas, Kisslegg/Allgäu) waren durchschnittlich 6 Wochen alt und hatten ein Gewicht von 30 - 35 g.

b) Die Ratten (*Rattus rattus*) (Stamm Wistar, Institut für Vergleichende Tropenmedizin) waren 6 Wochen alt und wogen zwischen 200 und 250 g.

c) Die Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) wurden aus Tierhandlungen bezogen. Ihr Alter betrug ca. 10 Wochen, ihr Gewicht lag zwischen 130 und 135 g.

d) Bei den Meerschweinchen (*Cavia porcellus* L.) schwankte das Alter zwischen 9 und 11 Monaten, das Gewicht betrug durchschnittlich 600 g.

e) Die Wüstenspringmäuse (*Jaculus jaculus*) wurden über den Tierhandel bezogen und stammten aus Nordafrika. Das Alter

der Tiere war nicht bekannt. Ihr Gewicht betrug 50 - 70 g. Während der Versuche waren die Tiere in kleinen Gruppen in Makrolonkäfigen untergebracht.

3. Pharmaka

- a) Acaprin[®] 5%ig (N,N'-(bis-methylchinolylium-methylsulfat-6)-Harnstoff; (Bayer).
- b) Astiban[®] 10%ig (2 g stiblo -meso-2,3-dimercapto-succin-natric.); (Hoffmann-La Roche, Basel).
- c) Bayer 205 (Germanin)[®], ein Harnstoffderivat; (Bayer).
- d) Berenil[®] 4,5%ig (4-4'-diamino-diazoaminobenzol); (Hoechst).
- e) Camolar[®] (Cycloguanil); (Parke-Davies, USA).
- f) Cepaloridin-Glaxo[®] (7-amino-cephalosporansäure); (Glaxo-Pharmazeutica GmbH).
- g) Homidium bromide[®] (3,8 -diamino-5-aethyl-6-phenyl-phenanthridinum bromid); (Bayer).
- h) Imidocarb[®] (3,3' - bis - (2-imidazolin-2yl) carbanilid dihydrochlorid); (Burroughs Wellcome u. Co., USA).
- i) Lomidine[®] (Bis-(carbonamidino-4-phenoxy)-1,5 pentan); (Spécia, Paris).
- k) Mepacrin (Atebrin)[®] (6-chlor-9-(4-diaethylamino-1-methyl-butylamino)-2-methoxy-acridin); (Bayer).
- l) Neosalvarsan[®] (3,3'-diamino-4,4'-dioxyarsenobenzol-N-methan-sulfinsaures Natrium u. organische Salze); (Hoechst).
- m) Paraxin[®] (Chloramphenicol); (Boehringer).
- n) Plasmochin-Simplex[®] (8-(4-diaethylamino-1-methyl-butylamino)-6-methoxy-chinolin); (Bayer).
- o) Resochin[®] 5%ig (7-chlor-4-(4'-diaethylamino-1'-methylbutyl-amino)-chinolin-diphosphat); (Bayer).

- p) Reverin[®] (pyrrolidino-methyl-tetracyclin); (Hoechst).
- q) Terramycin[®] (Oxytetracyclin); (Pfizer).
- r) Theracanzan[®] (Langzeitsulfonamid = Sulfadimethoxin);
(Therapogen).
- s) Trypanblau[®] (Naphthalen-Derivat); (Brocades-Stheeman u.
Pharmacia, Amsterdam).

4. Splenektomie

Die Splenektomie der Versuchstiere wurde jeweils 8 Tage vor Übertragung der Babesien vorgenommen. Die Entmilzung von Mäusen, Ratten, Goldhamstern und Meerschweinchen erfolgte nach der von ERSEK (1968) angegebenen Methode. Die Milzexstirpation fand bei Mäusen, Ratten und Goldhamstern unter Aether-, bei Meerschweinchen unter Nembutalnarkose (Nembutal[®], Fa. Abbott, Frankreich; 30 mg/kg intraperitoneal) statt.

5. Blutentnahme

Bei Mäusen, Ratten, Goldhamstern und Wüstenspringmäusen erfolgte die Blutentnahme für Ausstriche und hämatologische Untersuchungen aus dem Schwanz, beim Meerschweinchen durch Scherenschlag am Ohrmuschelrand. Größere Blutmengen wurden unter Zusatz von Vetren[®] (Fa. Promonta-Hamburg) aus dem retroorbitalen Venenplexus nach der Methode von NÜLLER (1955) entnommen.

6. Färbung

Die Färbung der Blutausstriche erfolgte mit Giemsa-Lösung (Merck A.G., Darmstadt).

7. Einstellung des Parasitengehaltes im Inokulum

Als Inokulum wurde Blut von infizierten Spendertieren verwendet.

Zur Bestimmung der Höhe des Parasitenbefalles wurden die Ery-

throzyten des Spendertieres ausgezählt (Thoma-Zählkammer), und die Zahl der mit Babesien befallenen roten Blutkörperchen im gefärbten Blutaussstrich (pro 1000 Erythrozyten) bestimmt. Dabei galten Erythrozyten, die mit mehr als einem Parasiten befallen waren, als nur einfach infiziert. Die Befallsdichte von beispielsweise 100%o besagte demnach ohne Festlegung der absoluten Parasitenzahl, daß 100 von 1000 roten Blutkörperchen mit Babesien befallen waren.

Entsprechend der gewünschten Parasitenzahl des Inokulums wurde das Spenderblut mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Bei der Mehrzahl der Übertragungsversuche kamen Inokula mit jeweils 1 Million infizierter Erythrozyten pro Versuchstier zur Verwendung. Bei zwei Versuchsreihen (e u. f) betrug die Parasitenzahl 800 resp. 2 und 10 Millionen parasitierter Erythrozyten.

8. Bestimmung des Hämoglobinwertes

Die Bestimmung des Hämoglobins erfolgte nach Oxydation durch Cyanhämoglobin-Reagenz "S" (Fa. Asid, München) im Eppendorf-Photometer nach einer Reaktionszeit von 60 Minuten.

II. Ergebnisse

a) Infektionsverlauf von *Babesia musculi* bei 80 nicht entmilzten und 80 entmilzten Mäusen

Zwei Gruppen von 80 nicht entmilzten und 80 entmilzten Mäusen wurden mit jeweils 1 Mill. parasitierter Erythrozyten pro Tier intraperitoneal (i.p.) infiziert. Die mikroskopische Kontrolle der Parasitämie fand im Abstand von 2 - 3 Tagen statt. Die Bestimmung der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehaltes erfolgte einmal wöchentlich. Die Beobachtungsdauer betrug 3 Monate (93 Tage).

1. Normalwerte der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehaltes bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen

In der folgenden Tabelle (Tab. 1) ist das Ergebnis der Erythrozytenzählung und der Hämoglobinbestimmung in Durchschnitts-, Minimal- und Maximalwerten zusammengefaßt:

Tabelle 1

	nicht entmilzte Mäuse			entmilzte Mäuse		
	D.-Wert	min.Wert	max.Wert	D.-Wert	min.Wert	max.Wert
Ery. (Mill./mm ³)	9,77	8.95	10.40	9.55	8.60	11.20
Hb (g%)	20,0	19,0	22,2	17,7	16,6	19,2

2. Verlauf der Parasitämie

2.1 Nicht entmilzte Mäuse (Abb. 1)

Die Präpatenzzeit dauerte durchschnittlich 3 Tage (min. 2 Tg., max. 4 Tg.). Der Parasitenbefall nahm bis zum 18. Tag p.i. (min. 14 Tg., max. 35 Tg.) stetig zu und erreichte einen Maximalwert von durchschnittlich 320% (min. 1%, max. 890%).

Danach erfolgte ein allmählicher Abfall der Babesienzahl. Nach 50 Tagen p.i. war bei der Mehrzahl der Mäuse eine Befallsdichte von 10 - 20% vorhanden. Dieser Befall blieb bis zum Ende der Beobachtungszeit (93 Tage) erhalten (Tabelle 2).

2.2 Entmilzte Mäuse (Abb. 2)

Die Präpatenzzeit betrug durchschnittlich 3 Tage (min. 1 Tg., max. 4 Tg.). Danach stieg die Parasitämie schnell an und erreichte durchschnittlich 18 Tage p.i. (min. 11 Tg., max. 46 Tg.) ein Maximum von 470% (min. 180%, max. 880%). Anschließend sank die Parasitenzahl langsam auf einen mittleren Wert von 150% (min. 107%, max. 233%) ab. Diese Befallshöhe änderte sich bis zum Ende der Beobachtungszeit nicht (Tabelle 2).

Abb. 1

Verlauf der Parasitämie bei nicht entmilzten Mäusen

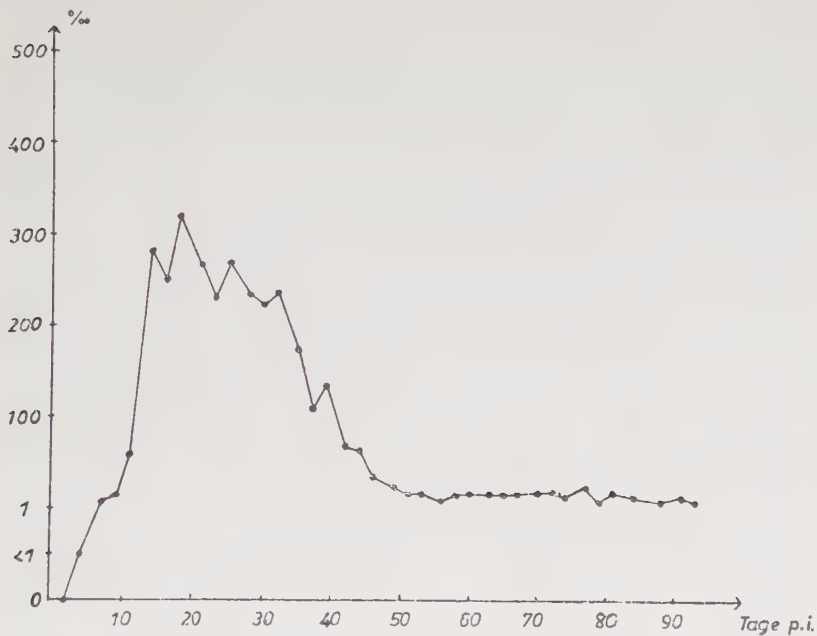


Abb. 2

Verlauf der Parasitämie bei entmilzten Mäusen

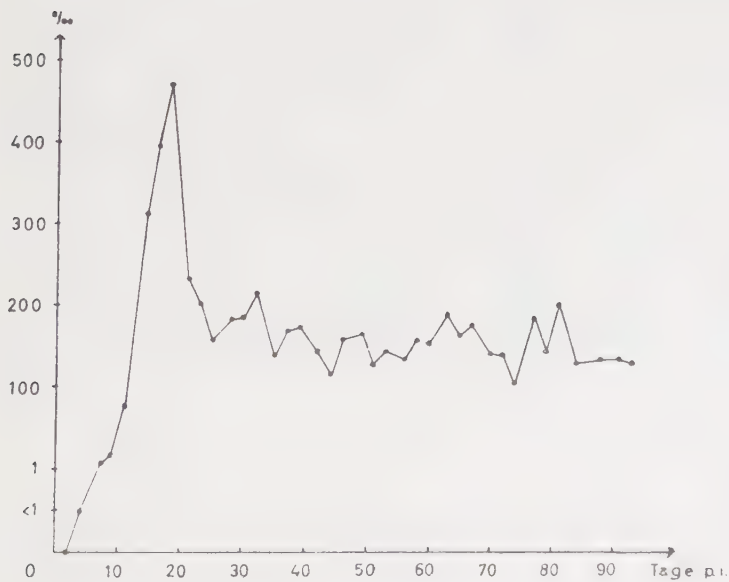


Tabelle 2

Parasitenbefall und Veränderung von Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt bei nicht entmilzten Mäusen (I.) und entmilzten Mäusen (II.) (Mittelwerte):

Tage (p.i.)	Befall (%)		Ery. (Mill./mm ³)		Hb (g%)	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.
2	Ø / <1	Ø / <1				
4	<1	<1	8.08	8.35	18,0	17,7
7	8	7				
9	14	17				
11	58	76	7.28	7.06	18,5	16,7
14	282	314				
16	251	396				
18	320	470	6.39	2.75	13,6	6,3
21	267	233				
23	232	202				
25	271	159	5.11	2.52	11,4	5,8
28	235	183				
30	223	184				
32	238	216	5.16	1.74	12,5	4,7
35	175	141				
37	109	171				
39	135	174	5.45	2.49	14,0	6,6
42	70	146				
44	66	119				
46	34	161	5.41	2.08	15,7	5,3
49	25	167				
51	17	130				
53	16	146	6.01	2.32	16,3	7,2
56	11	136				
58	16	159				
60	18	154	7.46	2.14	17,6	7,3
63	17	192				
65	17	165				
67	17	177	8.15	2.63	17,9	7,6
70	19	143				
72	20	144				
74	15	107	7.22	2.21	16,7	7,8
77	25	186				
79	10	147				
81	21	203	8.72	2.37	17,3	7,2
84	14	131				
88	10	136	8.73	3.03	18,1	7,9
91	18	135				
93	11	128				

3. Die Erythrozytenzahl im Verlauf der Infektion

3.1 Nicht entmilzte Mäuse (Abb. 3)

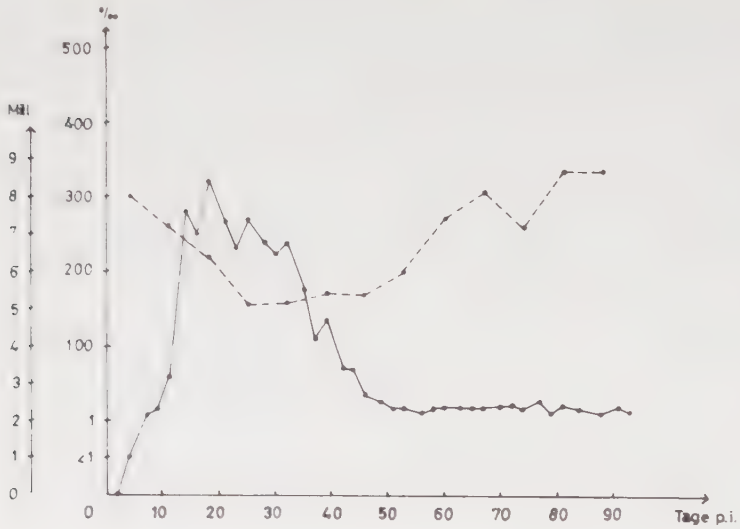
In den ersten 4 Tagen nach der Infektion verringerte sich die Erythrozytenzahl vom durchschnittlichen Ausgangswert 9.77 Mill./mm³ (min. 8.95 Mill./mm³, max. 10.40 Mill./mm³) auf einen Mittelwert von 8.08 Mill./mm³ (min. 6.82 Mill./mm³, max. 10.24 Mill./mm³). Die Zahl der roten Blutkörperchen sank bis zum 25. Tag p.i. (min. 18. Tg., max. 46 Tg.) kontinuierlich ab und erreichte zu diesem Zeitpunkt ihren tiefsten Wert von durchschnittlich 5.11 Mill./mm³ (min. 3.00 Mill./mm³, max. 7.35 Mill./mm³). In der folgenden Zeit stiegen die Erythrozytenwerte allmählich wieder an und wiesen am Ende der Beobachtungszeit (88. Tg. p.i.) einen mittleren Wert von 8./3 Mill./mm³ (min. 6.86 Mill./mm³, max. 12,46 Mill./mm³) auf. Eine kurzfristige Verringerung der Erythrozytenzahl trat am 74. Tag p.i. auf.

3.2 Entmilzte Mäuse (Abb. 4)

Innerhalb der ersten 4 Tage nach der Infektion verminderte sich die Zahl der roten Blutkörperchen vom durchschnittlichen Ausgangswert 9.55 Mill./mm³ (min. 8.60 Mill./mm³, max. 11.20 Mill./mm³) auf einen mittleren Wert von 8.35 Mill./mm³ (min. 5.54 Mill./mm³, max. 11.60 Mill./mm³). Bis zum 25. Tag p.i. nahm die Erythrozytenzahl stetig ab und zeigte zu diesem Zeitpunkt einen Mittelwert von 2.52 Mill./mm³ (min. 0.53 Mill./mm³, max. 6.10 Mill./mm³). Dieser Wert blieb mit geringfügigen Schwankungen bis zum Ende der Versuchszeit erhalten. Die niedrigste Erythrozytenzahl wurde durchschnittlich am 32. Tag p.i. (min. 18. Tg., max. 60. Tg.) festgestellt und wies einen mittleren Wert von 1.74 Mill./mm³ (min. 0.90 Mill./mm³, max. 3.48 Mill./mm³) auf. Am letzten Tag (88. Tag p.i.) lag eine mittlere Erythrozytenzahl von 3.03 Mill./mm³ (min. 0.70 Mill./mm³, max. 6.34 Mill./mm³) vor.

Abb. 3

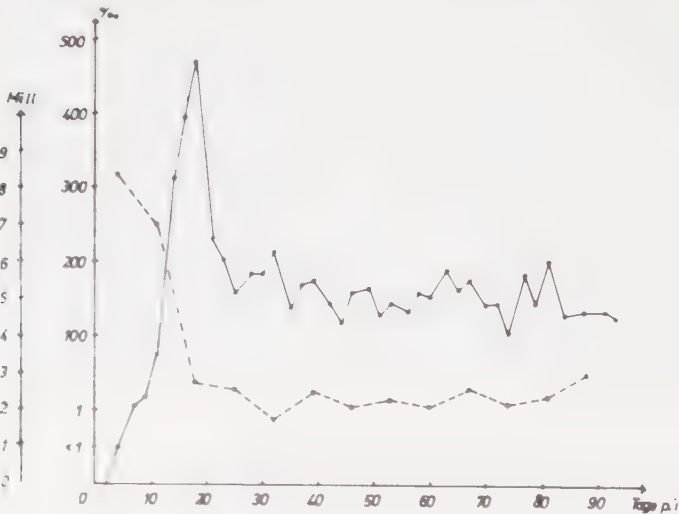
Abhängigkeit der Erythrozytenzahl (Mill.) von der Befallshöhe (%) (nicht entmilzter Mäuse)



—•—•— Parasitämie - - - - - Erythrozyten

Abb. 4

Abhängigkeit der Erythrozytenzahl (Mill.) von der Befallshöhe (%) (entmilzter Mäuse)



—•—•— Parasitämie - - - - - Erythrozyten

4. Der Hämoglobingehalt im Verlauf der Infektion

4.1 Nicht entmilzte Mäuse (Abb. 5)

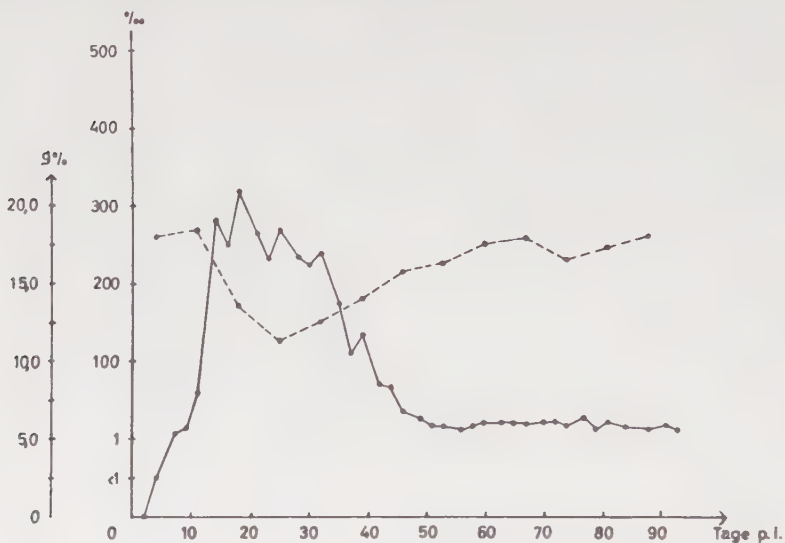
In den ersten 4 Tagen nach der Infektion sank der Hämoglobingehalt auf einen Mittelwert von 18 g% (min. 16,1 g%, max. 20 g%) ab. Der Ausgangswert betrug durchschnittlich 20 g% (min. 19 g%, max. 22,2 g%). In der Folgezeit verringerte sich der Hämoglobinwert weiterhin und erreichte am 25. Tag p.i. (min. 18. Tg., max. 39. Tg.) seinen tiefsten Wert von durchschnittlich 11,4 g% (min. 9,3 g%, max. 13,9 g%). Danach stieg der Hämoglobingehalt wieder an. Am Ende der Versuchszeit (88. Tg. p.i.) betrug er 18,1 g% (min. 14,6 g%, max. 21,8 g%). Eine kurzfristige Verminderung des Hämoglobingehaltes wurde am 74. Tag p.i. festgestellt. Der Mittelwert lag zu diesem Zeitpunkt bei 16,7 g% (min. 13,4 g%, max. 24,0 g%).

4.2 Entmilzte Mäuse (Abb. 6)

Am 4. Tag p.i. ergab der Hämoglobingehalt einen Mittelwert von 17,7 g% (min. 16,6 g%, max. 19,2 g%), der dem durchschnittlichen Ausgangswert entsprach. Bis zum 32. Tag p.i. (min. 18. Tg., max. 67. Tg.) sank der Hämoglobinwert rasch auf durchschnittlich 4,7 g% ab (min. 3,3 g%, max. 9,5 g%). Anschließend nahm der Hämoglobingehalt bis zum Ende der Beobachtungszeit ständig zu und betrug am 88. Tag p.i. im Mittel 7,9 g% (min. 2,4 g%, max. 14,8 g%). Der kontinuierliche Anstieg des Hämoglobins war am 46. Tag p.i. für kurze Zeit unterbrochen.

Abb. 5

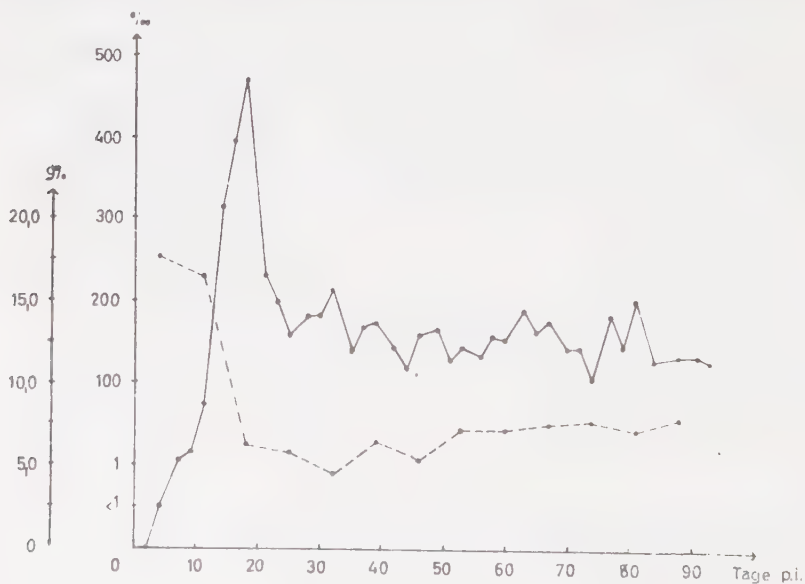
Abhängigkeit des Hämoglobingehaltes (g%) von der Befallshöhe (%) (nicht entmilzter Mäuse)



—•— Parasitämie - - - - - Hämoglobingehalt

Abb. 6

Abhängigkeit des Hämoglobingehaltes (g%) von der Befallshöhe (%) (entmilzter Mäuse)



—•— Parasitämie - - - - - Hämoglobingehalt

5. Klinisches Verhalten von Mäusen bei der Babesia musculi Infektion

Bis zum Anstieg der Parasitämie verhielten sich nicht entmilzte und entmilzte Mäuse gleich. Das Fell der Versuchstiere war glänzend, die Schleimhäute von Mund und Konjunktiven gut durchblutet. Mit steigendem Parasitenbefall änderte sich das Bild in beiden Versuchsgruppen deutlich, wobei die Krankheitserscheinungen auf dem Höhepunkt der Parasitämie am schwersten auftraten. Während die nicht entmilzten Mäuse im allgemeinen nur eine geringgradige Inappetenz, leichte Apathie und ein struppiges Fell zeigten, wiesen die entmilzten Tiere folgende Krankheitssymptome auf: Struppiges Fell, Inappetenz, Apathie und taumelnder Gang, daneben hochgradige Anämie der Schleimhäute mit deutlich ikterischer Verfärbung. In zahlreichen Fällen wurde Hämoglobinurie beobachtet. Vor dem Exitus trat ausgeprägter Muskeltremor auf.

Nach der akuten Phase der Babesiose verloren sich die Krankheitserscheinungen bei nicht entmilzten Mäusen rasch. Bei entmilzten Mäusen stellte sich - im chronischen Krankheitsstadium - ein Normalverhalten nicht mehr ein. Die Tiere blieben in der Entwicklung zurück und zeigten weiterhin die Symptome einer Anämie.

6. Mortalität

Die Mortalität betrug bei nicht entmilzten Mäusen 4/80 (5 %), bei entmilzten Mäusen 21/80 (26 %).

b) Infektionsverlauf nach unterschiedlicher Applikationsart des Parasiten

Der Versuch sollte zeigen, ob unterschiedliche Applikationsarten einen Einfluß auf den Infektionsverlauf haben. Für jede Applikationsart (subkutan (s.c.), intramuskulär (i.m.), intraperitoneal (i.p.) und intravenös (i.v.)) wurden 5 nicht entmilzte und 5 entmilzte Mäuse verwandt. Die Infektionsdosis betrug 1 Million infizierter Erythrozyten, die Beobachtungszeit 3 Monate. Die Parasitenkontrolle fand im Abstand von 2 - 3 Tagen statt.

In den folgenden Tabellen (Tab. 4 u. 5) wird die Präpatenzzeit, das Maximum und der Zeitpunkt der höchsten Parasitämie sowie die Höhe des Parasitenbefalles am Ende der Beobachtungszeit aufgezeigt.

Tabelle 4 (nicht entmilzte Mäuse)

Infektion	Pz			ZP			MP(‰)			BE(‰)		
	D.	min.	max.	D.	min.	max.	D.	min.	max.	D.	min.	max.
s.c.	16	9	28	28	25	65	256	1	550	3	<1	13
i.m.	11	9	11	23	23	32	282	120	580	2	<1	5
i.p.	3	2	4	18	14	35	320	1	890	15	10	20
i.v.	4	2	7	18	14	35	425	220	560	13	<1	35

Tabelle 5 (entmilzte Mäuse)

Infektion	Pz			ZP			MP(‰)			BE(‰)		
	D.	min.	max.	D.	min.	max.	D.	min.	max.	D.	min.	max.
s.c.	9	7	11	35	25	35	267	1	574	130	<1	390
i.m.	7	4	9	25	25	32	420	360	480	53	15	90
i.p.	3	1	4	18	11	46	470	180	880	150	107	233
i.v.	3	2	7	18	14	28	502	190	880	77	1	160

Anmerkung: D : Durchschnittswert;
Pz : Präpatenzzeit (Tg.p.i.);
ZP : Zeitpunkt der höchsten Parasitämie (Tg. p.i.);
MP : Maximum der Parasitämie;
BE : Befallhöhe am Ende der Beobachtungszeit;

c) Einfluß der Splenektomie auf die latente *Babesia musculi*-Infektion

Zur Untersuchung des Einflusses der Splenektomie auf die latente *Babesia musculi*-Infektion wurden 15 Mäuse entmilzt, die 3 Monate vor der Splenektomie eine akute Babesiose durchlaufen hatten. Vor der Milzexstirpation lag der durchschnittliche Parasitenbefall bei 5‰. Die parasitologischen Untersuchungen wurden über einen Zeitraum von 3 Monaten hinweg alle 2 - 3 Tage durchgeführt.

In der folgenden Tabelle (Tab. 7) und graphischen Darstellung (Abb. 7) wird das Verhalten der latenten Infektion nach der Splenektomie aufgezeigt.

Tabelle 7

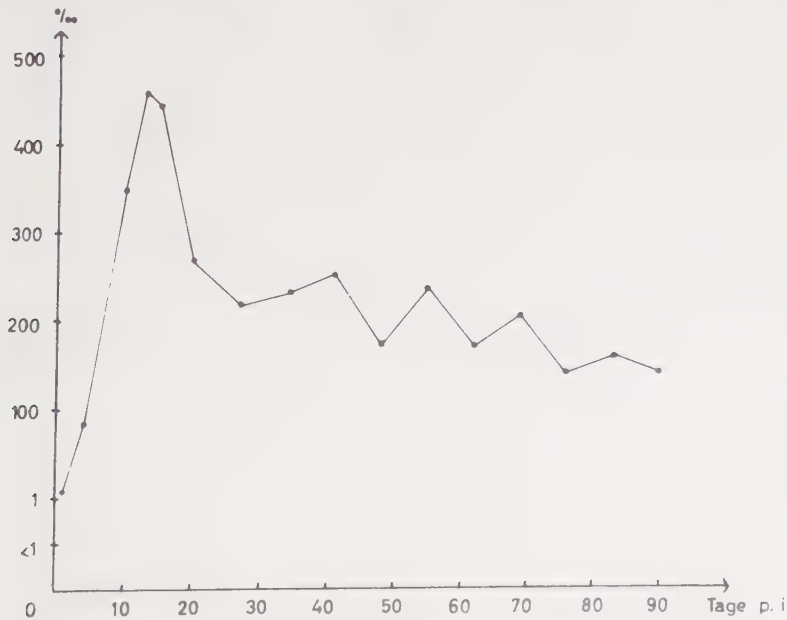
Verlauf der *Babesia musculi*-Infektion nach der Splenektomie

ZP			MP (‰)			BE (‰)		
D.	min.	max.	D.	min.	max.	D.	min.	max.
13	10	15	460	240	880	143	25	342

Anmerkung: D. : Durchschnittswert;
 ZP : Zeitpunkt der höchsten Parasitämie (Tage nach der Entmilzung);
 MP : Maximum der Parasitämie;
 BE : Befallshöhe am Ende der Beobachtungszeit;

Abb. 7

Höhe der Parasitämie nach der Splenektomie



Veränderung von Größe und Gewicht der Milz bei der
Babesia musculi-Infektion

Bei 15 Mäusen wurde während des chronischen Krankheitsstadiums die Milz - 3 Monate nach der Babesia musculi-Infektion - exstirpiert und ihre Größe und das Gewicht bestimmt. Dabei zeigte sich, daß bei allen Tieren eine starke Splenomegalie vorlag. Die durchschnittliche Länge betrug 35 mm, die Breite 10 mm und die Dicke 4 mm. Bei 15 nicht infizierten Mäusen gleichen Alters und Gewichtes wurde eine durchschnittliche Milzlänge von 15 mm, Breite von 3 mm und Dicke von 2 mm gemessen.

Die vergrößerte Milz der infizierten Tiere hatte ein durchschnittliches Gewicht von 1,35 g, während die Milz der Kontrolltiere 0,3 g wog.

d) Prüfung der Virulenz von *Babesia musculi* im Laufe fortgesetzter Passagen

Zur Untersuchung des Virulenzverhaltens von *Babesia musculi* im Laufe fortgesetzter Passagen wurde der Parasit über 26 Passagen hinweg auf jeweils 2 nicht entmilzte und 2 entmilzte Mäuse übertragen. Das Blut zur Durchführung einer neuen Passage stammte jeweils von derjenigen Spendermaus, die den höchsten Parasitenbefall zeigte. Dabei blieb unberücksichtigt, ob die entsprechende Maus entmilzt oder nicht entmilzt war. Bis zur 13. Passage wurde der 7. Tag p.i. als Stichtag für die Übertragung gewählt. Die Befallshöhe der Mäuse reichte zu diesem Zeitpunkt gut für die Inokula aus. Von der 13. Passage bis einschließlich der 26. Passage mußte eine Änderung des Versuchsschemas vorgenommen werden, da nach dieser Zeit der Parasitenbefall der Mäuse allmählich so gering wurde, daß die Parasitenzahl für die zur weiteren Passage bestimmten Inokula nicht mehr ausreichte. Deshalb erfolgte die Blutübertragung in der zweiten Versuchshälfte nur noch alle 14 Tage, nachdem der Parasitenbefall stärker geworden war.

Im Abstand von 6 Passagen fand jeweils eine Übertragung von *Babesia musculi* auf ein Kollektiv von 20 nicht entmilzten und 20 entmilzten Mäusen statt. Innerhalb dieser größeren Kollektive sollte eine exakte Analyse hinsichtlich einer eventuell auftretenden Virulenzvermehrung bzw. -verminderung gemacht werden. Das Blut für die Versuche stammte von Mäusegruppen mit steigender Passagezahl (0-, 5-, 11-, 17-, 23- und 25.-Passage). Die Infektionsdosis betrug 1 Million parasitierter Erythrozyten pro Maus, die Beobachtungsdauer 3 Monate. Neben der Parasitenzahl wurde die Zahl der roten Blutkörperchen und der Hämoglobinwert bestimmt.

Passagen: 1 - 13

Die Präpatenzzeit dauerte bei allen Mäusen durchschnittlich 3 Tage. Am 1. Tag p.i. wies die Befallshöhe bei nicht entmilzten Mäusen einen mittleren Wert von 3‰ (min. 1‰, max. 8‰), bei entmilzten Mäusen 4‰ (min. 1‰, max. 13‰) auf. Danach stieg die Parasitämie rasch an und erreichte bei beiden Mäusegruppen durchschnittlich am 19. Tag p.i. (min. 14. Tg., max. 28. Tg.) den höchsten Parasitenbefall. Dieser lag bei nicht entmilzten Mäusen bei 346‰ (min. 140‰, max. 905‰), bei entmilzten Mäusen bei 625‰ (min. 410‰, max. 834‰). Bis zum Ende der Beobachtungszeit verringerte sich die Befallsdichte bei nicht entmilzten Mäusen kontinuierlich und ergab am 93. Tag p.i. einen Durchschnittswert von 7‰ (min. 1‰, max. 15‰). Bei entmilzten Mäusen traten beim Absinken der Parasitämie Schwankungen auf. Am 93. Tag p.i. betrug der mittlere Wert der Befallsdichte 193‰ (min. 17‰, max. 265‰).

Passagen: 14 - 26

Bei nicht entmilzten Mäusen betrug die Präpatenzperiode im Mittel 5 Tage, bei entmilzten Mäusen 4 Tage. Die Befallsdichte am 7. Tag p.i. wies bei nicht entmilzten Mäusen einen mittleren Wert von 2‰ (min. 1‰, max. 6‰), bei entmilzten Mäusen von 1‰ (min. 1‰, max. 3‰) auf. Anschließend nahm die Parasitämie rasch zu und erreichte bei nicht entmilzten Mäusen durchschnittlich am 21. Tag p.i. (min. 14. Tg., max. 28. Tg.), bei entmilzten Mäusen am 19. Tag p.i. (min. 14. Tg., max. 23. Tg.) den höchsten Parasitenbefall. Dieser lag bei nicht entmilzten Mäusen im Mittel bei 324‰ (min. 144‰, max. 490‰), bei entmilzten Mäusen bei 485‰ (min. 342‰, max. 760‰). Bis zum Abschluß der Versuche sank die Befallsdichte bei nicht entmilzten Mäusen kontinuierlich ab und zeigte am 93. Tag p.i. einen Mittelwert von 5‰ (min. 1‰, max. 10‰) auf. Der Babesienbefall bei entmilzten Mäusen verminderte sich dagegen nur zögernd, vereinzelte Rückfälle traten auf.

Am 93. Tag p.i. wies die Parasitämie einen Durchschnittswert von 140‰ (min. 18‰, max. 280‰) auf.

Die folgende Tabelle gibt den Infektionsverlauf von *Babesia musculi* der 0., 5., 11., 17., 23. und 25.-Passage bei einem Kollektiv von jeweils 20 nicht entmilzten und 20 entmilzten Mäusen an.

Tabelle 8

Infektionsverlauf von *Babesia musculi* bei zunehmender Passagenzahl

Zahl der Passagen	nicht entmilzte Mäuse			entmilzte Mäuse		
	ZP D.	MP(‰) D.	Mort.(%) D.	ZP D.	MP(‰) D.	Mort.(%) D.
0 ^x	14	565	10	16	527	20
5.	18	447	5	18	560	25
11.	16	337	0	18	580	25
17.	14	321	0	14	511	20
23.	13	310	0	13	505	10
25.	13	270	0	14	485	10

Anmerkung: D. : Durchschnittswert;

ZP : Zeitpunkt der höchsten Parasitämie (Tg. p.i.);

MP : Maximum des Parasitenbefalles;

^x : Passage aus Stamm-Mäusen;

e) Wirtsspezifität von *Babesia musculi*

Dieser Versuch sollte zeigen, ob neben Mäusen auch andere Tierarten für *Babesia musculi* empfänglich sind.

Jeweils 3 Meerschweinchen, 3 Ratten und 4 Goldhamster wurden i.p. mit 800 Millionen, 2 Wüstenspringmäuse mit jeweils 2 Millionen parasitierter Mäuse-Erythrozyten infiziert. 2 Meerschweinchen, 2 Ratten und 2 Goldhamster wurden vor der Infektion entmilzt. Bei den Wüstenspringmäusen erfolgte wegen der hochgradigen Reizbarkeit der Tiere und der damit verbundenen Schockgefahr keine Entmilzung. Auch das Inokulum wurde wegen letztgenannten Grundes auf 2 Mill. reduziert. Die Kontrolle des Parasitenbefalles im Abstand von 2 Tagen fand über einen Zeitraum von 4 Wochen bei Meerschweinchen und Ratten, 4 Monaten bei Wüstenspringmäusen und 6 Monaten bei Hamstern statt.

1. Meerschweinchen (*Cavia porcellus* L.)

Nach Übertragung von *Babesia musculi* wurden zu keiner Zeit bei den Meerschweinchen Parasiten im peripheren Blut nachgewiesen. 6 Wochen nach der Infektion erfolgte eine Rückübertragung von Meerschweinchenblut auf empfängliche Mäuse, die in keinem Falle zu einer *Babesia musculi*-Infektion führte.

2. Ratte (*Rattus rattus*)

Bei den entmilzten Ratten wurden schon am 1. Tag p.i. Parasiten in geringer Zahl (<1% / 2%) im peripheren Blut nachgewiesen. Am 2. Tag p.i. betrug die Parasitämie 5 % bzw. 10%, nach einem weiteren Tag 2% bzw. 4%. Am 4. Tag bzw. am 6. Tag p.i. lag die Befallsdichte unter 1%. Vom 5. Tag bzw. 7. Tag p.i. bis zum Ende der 4-wöchigen Beobachtungszeit war das periphere Blut mikroskopisch frei von Babesien. Die nicht entmilzte Ratte zeigte innerhalb der ersten 3 Tage p.i. einen schwachen Befall (1%), danach konnten keine

Parasiten mehr festgestellt werden.

Die Blutrückübertragung von den Ratten auf empfängliche Mäuse führte zu keiner *Babesia musculi*-Infektion.

3. Goldhamster (*Mesocricetus auratus*)

3.1 Nicht entmilzte Goldhamster

24 Stunden nach der Infektion traten bei den nicht entmilzten Hamstern die ersten Babesien im peripheren Blut auf und vermehrten sich bis zum 6. Tag resp. 7. Tag p.i. auf 30% bzw. 25%. Im weiteren Verlauf der Infektion sank die Befallsdichte rasch ab und betrug am 17. Tag bzw. 24. Tag p.i. unter 1%. Vom 38. Tag resp. 43. Tag p.i. bis zum Ende der 8-wöchigen Beobachtungszeit ließen sich im peripheren Blut beider Tiere keine Parasiten mehr nachweisen. Danach traten - bis zum Abbruch des Versuches (6 Monate p.i.) - Babesien sporadisch wieder im peripheren Blut auf.

3.2 Entmilzte Goldhamster

Schon am 1. Tag p.i. waren Babesien in geringer Anzahl im peripheren Blut nachweisbar. Es folgte ein rascher Anstieg, der 14 Tage p.i. einen Durchschnittswert von 380% (max. 500%) erreichte. 8 Wochen nach der Infektion hatte der Befall bei beiden Tieren eine Höhe von annähernd 1%, der bis zum Abbruch des Versuchs bestehen blieb.

4. Wüstenspringmäus (*Jaculus jaculus*)

Eine der beiden Wüstenspringmäuse verendete interkurrent 2 Wochen nach der Infektion. Bei der anderen Wüstenspringmaus traten die ersten Babesien nach der 4. Woche p.i. auf. Die Parasitämie stieg in der 7. Woche p.i. auf eine Höhe von 358% an. Bis zum 165. Tag p.i. unterlag der Befall Schwankungen von 150% bis 350%. Vom 165. Tag p.i. an setzte eine plötzliche Parasitenvermehrung ein, die am 179. Tag p.i. bei einer Befallsdichte von annähernd 900% den Tod verursachte.

f) Chemotherapie der Babesia musculi-Infektion

Die Wirksamkeit der verschiedenen Chemotherapeutika wurde an Gruppen von jeweils 5 nicht entmilzten Mäusen getestet, die mit 10 Millionen parasitierter Erythrozyten infiziert waren. Die Behandlung erfolgte bei einer Befallsdichte von durchschnittlich 300% - 400%. Bei Präparaten, für die Dosierungsangaben für Mäuse fehlten, wurde die Toleranzdosis in Vorversuchen an nicht infizierten Mäusen festgestellt. Zeigte eine chemische Verbindung nach 2 oder 3 Verabreichungen keinen Erfolg, so wurde die Behandlung wegen Unwirksamkeit des Pharmakums abgebrochen. Insgesamt fand eine Prüfung von 18 verschiedenen Medikamenten statt.

Die Präparate gehörten zu der Gruppe der Antimalariamittel, Antibiotika und Pharmaka gegen Trypanosomiasis. Von den geprüften Chemotherapeutika zeigten Imidocarb und Berenil (4,5%ig) bei i.m.-Verabreichung einen deutlichen Einfluß auf die Parasitämie. Die übrigen Präparate waren unwirksam.

Von Imidocarb fehlten Angaben über Dosierung und Applikationsart. Die Toleranzdosis ergab 33 mg/kg. Bei höherer Dosierung traten Nebenwirkungen und Todesfälle auf.

Berenil

a) 2-malige Behandlung

Berenil (39 mg/kg) wurde in der ersten Applikation bei einem durchschnittlichen Parasitenbefall von 300% (13. Tg. p.i.) verabreicht. Die Behandlung zeigte keine Wirkung auf die Parasitämie. 2 Tage später (15. Tg. p.i.) erfolgte eine erneute Behandlung in gleicher Dosierung. Danach verringerte sich die Parasitenzahl kontinuierlich. Vom 6. - 17. Tag nach der 2. Applikation konnten im peripheren Blut keine Parasiten nachgewiesen werden. Anschließend setzte erneut eine Parasitenvermehrung ein.

b) 3-malige Behandlung

Mäuse mit einer Befallshöhe von durchschnittlich 320% wurden am 13.-, 15.- und 17. Tag p.i. mit jeweils 39 mg/kg Berenil behandelt. Vom 5. - 15. Tag nach der 3. Verabreichung waren bei keinem der Versuchstiere Babesien nachweisbar. Im Anschluß daran setzte wieder eine Parasitenzunahme ein.

c) 4-malige Behandlung

Bei einem durchschnittlichen Befall von 375% wurde am 13.-, 15.-, 17.- und 19. Tag p.i. Berenil in der Dosierung von jeweils 1,3 mg/Maus verabreicht. Vom 3. - 17. Tag nach der letzten Applikation waren die Mäuse mikroskopisch frei von Babesien. Danach traten abermals Parasiten im peripheren Blut auf.

Imidocarb

a) 2-malige Behandlung

Imidocarb (33 mg/kg) wurde in der ersten Applikation bei einem durchschnittlichen Befall von 350% (13. Tg. p.i.) ohne Erfolg verabreicht. 2 Tage später (15. Tg. p.i.) erfolgte eine weitere Behandlung in gleicher Dosierung. Anschließend verminderte sich die Parasitenzahl kontinuierlich. Vom 3. - 17. Tag nach der 2. Verabreichung waren die Mäuse mikroskopisch frei von Babesien. Danach wurden erneut Parasiten beobachtet.

b) 3-malige Behandlung

Bei einem durchschnittlichen Parasitenbefall von 350% (13. Tg. p.i.) wurde am 13.-, 15.- und 17. Tag p.i. Imidocarb in der Dosierung von jeweils 1 mg/Maus appliziert. Vom 5. - 19. Tag nach der letzten Verabreichung konnten mikroskopisch keine Babesien nachgewiesen werden. Anschließend setzte wiederum eine Parasitenvermehrung ein.

c) 4-malige Behandlung

Mäuse mit einer Befallshöhe von durchschnittlich 365‰ (13. Tg. p.i.) wurden am 13., 15., 17. und 19. Tag p.i. mit jeweils 1 mg Imidocarb behandelt. Vom 3. - 18. Tag nach der 4. Applikation waren bei keiner der Mäuse Babesien mikroskopisch nachweisbar. Danach erfolgte abermals ein Parasitenanstieg.

Chemotherapeutika, die bei 2-maliger Applikation im Abstand von 2 Tagen ohne Einfluß auf die Parasitämie waren:

Bei einer durchschnittlichen Befallshöhe von 300-400‰ wurde jedes Chemotherapeutikum am 13. und 15. Tag p.i. verabreicht. Die Durchführung der Versuche dauerte 19 Tage nach der 2. Applikation.

Tabelle 9

Dosierung und Applikationsart verschiedener Chemotherapeutika

Chemotherapeutikum	Applikationsart	Dosierung pro kg
<u>Astiban 10%ig</u> (Hoffmann-La Roche Basel)	i.m.	150 mg
<u>Bayer 205 (Germanin)</u> (Bayer)	i.m.	50 mg
<u>Camolar</u> (Parke Davis)	i.m.	840 mg
<u>Cepaloridin-Glaxo</u> (Glaxo-Pharmazeutika)	i.m.	170 mg
<u>Lomidine 4%ig</u> (Spécia, Paris)	i.m.	3,6 mg
<u>Mepacrin 4%ig</u> (Bayer)	i.m.	120 mg
<u>Paraxin</u> (Boehringer)	i.m.	200 mg
<u>Plasmochin-Simplex</u> 1%ig (Bayer)	i.m.	60 mg
<u>Resochin 5%ig</u> (Bayer)	i.m.	75 mg
<u>Reverin</u> (Hoechst)	i.m.	188 mg

Chemotherapeutikum	Applika- tionsart	Dosierung pro kg
<u>Terramycin</u> (Pfizer)	i.m.	225 mg
<u>Homidium-Bromide</u> 2,5%ig (Bayer)	i.p.	8,25 mg
<u>Trypanblau</u> (Brocades-Stheeman u. Pharmacia, Amsterdam)	i.p.	10 mg
<u>Acaprin 5%ig</u> (Bayer)	s.c.	3,3 mg
<u>Theracanzan</u> (Therapogen)	s.c.	60 mg
<u>Neosalvarsan</u> (Hoechst)	i.v.	30 mg

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Untersuchungen über *Babesia musculi*. Da über das Infektionsverhalten des Parasiten bisher nur wenige Angaben vorliegen, konzentrierte sich meine Arbeit auf die *Babesia musculi*-Infektion in weißen Mäusen, wobei das Infektionsgeschehen auch quantitativ erfaßt wurde. Daneben prüfte ich die Chemoresistenz des Parasiten gegenüber einer Reihe von Therapeutika, die bei der Behandlung anderer Blutprotozoen und auch bei Babesien von Nagetieren guten Erfolg hatten. Weiterhin wurden Untersuchungen durchgeführt über die Virulenz des Erregers nach fortgesetzten Passagen in Mäusen, über den Einfluß der Applikationsart auf die Infektion und über die Wirtsspezifität von *Babesia musculi*.

Um vergleich- und reproduzierbare Ergebnisse zu bekommen, wurde mit einheitlichem Versuchstiermaterial und standardisierten Inokula gearbeitet. Die genaue Zahl der Babesien im festgelegten Inokulum konnte allerdings quantitativ nicht erfaßt werden, da die parasitierten Erythrozyten und nicht die Anzahl der einzelnen Parasiten gezählt wurden. Es ist jedoch anzunehmen, daß im einzelnen Inokulum die Zahl der mit mehr als einem Parasiten befallenen roten Blutkörperchen und damit die enthaltene Parasitenmenge keinen großen Schwankungen unterliegt. Deshalb dürfte wohl dieser Wert als konstanter Faktor anzusehen sein.

Die Infektionsversuche mit *Babesia musculi* wurden an nicht entmilzten und entmilzten Mäusen vorgenommen. Dabei dienten die nicht entmilzten Mäuse als Modell für den Infektionsablauf im gesunden und intakten Organismus, während in den entmilzten Mäusen das Infektionsgeschehen unter extremen Stressbedingungen geprüft wurde.

Infektionsverlauf von *Babesia musculi*

Die Präpatenzzeit war in meinen Versuchen sowohl bei nicht entmilzten als auch bei entmilzten Mäusen annähernd gleich lang und betrug 2 - 4, in Ausnahmefällen bis zu 7 Tage. Bei *Babesia rodhaini*-Infektionen lagen die Präpatenzperioden in einer ähnlichen Größenordnung (van den BERGHE et al., 1950; NOWELL, 1969), während Angaben für *Babesia microti*-Infektionen fehlen. Bei den von MURATOV (1966) beschriebenen *Babesia musculi*-Infektionen wurden im Gegensatz hierzu außerordentlich lange Präpatenzzeiten festgestellt, die 1 - 21 Tage umfaßten.

Das unterschiedliche Ergebnis zwischen den Arbeiten von MURATOV (1966) und den eigenen Untersuchungen hinsichtlich der Dauer der Präpatenzperiode bei *Babesia musculi*-Infektionen läßt sich damit erklären, daß MURATOV (1966) wahrscheinlich mit wesentlich geringeren und uneinheitlicheren Infektionsdosen gearbeitet hat. Leider fehlen Hinweise in der mir zugänglichen Übersetzung der Originalarbeit über die Höhe der von ihm verwendeten Infektionsdosis.

Die Präpatenzzeit hängt außerdem - das haben die Arbeiten zahlreicher Autoren und auch die eigenen Untersuchungen gezeigt - von der Applikation und der Virulenz des Erregers ab. Auch die Applikationsart wurde leider in der Arbeit von MURATOV (1966) nicht erwähnt, so daß auch in dieser Beziehung ein direkter Vergleich nicht möglich ist. Was die Virulenz betrifft, so kann ein unterschiedliches Virulenzverhalten der Parasiten ausgeschlossen werden, da es sich in beiden Arbeiten um denselben Parasitenstamm nach annähernd gleicher Passagezahl handelt.

Der Höhepunkt der Parasitämie bei *Babesia musculi*-Infektionen fiel bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen durchschnittlich auf den 18. Tag p.i., während sich in beiden

Gruppen die durchschnittlichen Maximalwerte deutlich voneinander unterschieden. Sie betrugen bei nicht entmilzten Mäusen durchschnittlich 320‰ (max. 890‰), bei entmilzten Mäusen 470‰ (max. 880‰).

Bei einem Vergleich mit den entsprechenden Werten bei *Babesia rodhaini*- und *Babesia microti*-Infektionen zeigt sich, daß bei beiden der Höhepunkt der Parasitämie wesentlich schneller eintritt als bei der *Babesia musculi*-Infektion. Die Maxima der Befallshöhen liegen bei *Babesia rodhaini* und *Babesia musculi* in einem ähnlichen Bereich (700‰ - 900‰) (RODHAIN, 1950; van den BERGHE et al., 1950; BEVERIDGE, 1953; NOWELL, 1969), während für *Babesia microti* niedrigere Werte (560‰ - 610‰) angegeben sind (COX und YOUNG, 1969). Untersuchungen von MURATOV (1966) ergaben, daß die höchste Befallsdichte von *Babesia musculi* 500‰ und mehr betragen kann. Aus diesen Angaben ist leider nicht ersichtlich, ob es sich um Durchschnitts- oder Extremwerte handelt, so daß der direkte Vergleich zwischen seinen und meinen Ergebnissen in diesem Punkt wiederum entfallen muß.

Was die Höhe und den Zeitpunkt der maximalen Parasitenzahl betrifft, so muß auf die unterschiedlichen Voraussetzungen - unter denen die Arbeiten der genannten Autoren durchgeführt wurden - hingewiesen werden. Auch hier ist ein Vergleich schwierig, und er sollte in seiner Aussagekraft nicht überschätzt werden.

Die Höhe des persistierenden Parasitenbefalls in der chronischen Phase der Babesiose zeigte in meinen Versuchen bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen deutliche Unterschiede. In der Gruppe der nicht entmilzten Mäuse betrug die Parasitämie nach 3 Monaten 10‰ - 20‰, bei entmilzten Mäusen 100‰ - 200‰. Weder bei nicht entmilzten noch bei entmilzten Mäusen wurden Fälle beobachtet, bei denen die Parasiten vollständig aus dem peripheren Blut verschwanden. Damit verhält sich *Babesia musculi* im chronischen Stadium der Erkrankung ähnlich

wie *Babesia microti* (SHORTT und BLACKIE, 1965; COX und YOUNG, 1969; IRVIN und BROCKLESBY, 1969).

Bei *Babesia rodhaini*-Infektionen wurde im Gegensatz hierzu mehrfach ein latentes Stadium festgestellt, in dem keine Parasiten mehr im peripheren Blut mikroskopisch nachweisbar waren (van den BERGHE et al., 1950; SCHROEDER et al., 1966; NOWELL, 1969). Auch eine sterile Immunität, wie sie bei *Babesia rodhaini*-Infektionen von COLAS-BELCOUR und VERVERT (1953) beschrieben wurde, konnte in meinen Versuchen mit *Babesia musculi* nie beobachtet werden. Auch MURATOV (1966) gab in seinen Versuchen keinen Hinweis auf das Vorkommen einer sterilen Immunität oder auf eine Sterilisatio magna im Anschluß an die *Babesia musculi*-Infektion.

Die verschiedenartige Applikationsweise des Erregers (i.v.; i.p.; i.m.; s.c.) bewirkte auch einen unterschiedlichen Infektionsverlauf. Dabei zeigten die Versuchstiere der Gruppe, in welcher die Übertragung auf intraperitonealem bzw. intravenösem Wege vorgenommen wurde, einen ähnlichen Krankheitsablauf. Das gleiche galt für die Gruppen nach intramuskulärer und subkutaner Infektion.

Die Präpatenzzeit war bei der letztgenannten Gruppe mit durchschnittlich 14 Tagen bei nicht entmilzten und 8 Tagen bei entmilzten Mäusen deutlich verlängert gegenüber derjenigen der ersten Gruppe mit durchschnittlich 3 - 4 Tagen bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen. Auch die Befallsmaxima lagen in der Versuchsgruppe nach i.m. - und s.c.-Übertragung niedriger als bei der Vergleichsgruppe.

Der unterschiedliche Infektionsverlauf liegt zweifellos darin begründet, daß nach i.m.- und s.c.-Applikation der Übertritt der Parasiten in das Blut durch Gewebsschranken verzögert wird, während die Vermehrung des Parasiten nach i.v.-Übertragung sofort beginnen kann. Auch bei der i.p.-Verabreichung gelangt der Parasit zusammen mit den befallenen Erythrozyten innerhalb kürzester Zeit in die Blutbahn des Wirtstieres, da

über das lymphatische System des Zwerchfells Erythrozyten in toto oder kleine Partikel direkt übernommen werden (CUNNINGHAM, 1922; HAHN, 1944). Auch nach dieser Applikationsart dürfte deshalb die Vermehrung der Babesien schon sehr schnell nach ihrer Übertragung beginnen.

Der durch die Gewebsschranken verzögerte Eintritt der Parasiten in das Blutgefäßsystem ist durch einen retardierten Anstieg des Befalls gekennzeichnet. In der verlängerten Anlaufzeit der Infektion kann sich der Organismus durch den Aufbau seiner Abwehrmechanismen schneller und intensiver auf die Infektion einstellen, was in einem verhalteneren Infektionsablauf zum Ausdruck kommt.

In meinen Versuchen treten deutliche Unterschiede bei der Infektion von nicht entmilzten und entmilzten Mäusen auf. Dabei verlief die Parasitämie bei entmilzten Mäusen - wie dies auch von anderen Babesiosen bekannt ist - heftiger als bei den nicht entmilzten. Diese Steigerung des Infektionsgeschehens wird wahrscheinlich dadurch bewirkt, daß die Milz, das wesentliche Abwehrorgan des RHS, fehlt und das verbleibende RHS nicht in der Lage ist, in kurzer Zeit den Ausfall der Milz durch gesteigerte Aktivität zu kompensieren. Nach dem Überstehen der akuten Phase der Babesiose scheint eine weitgehende Kompensation der Milzfunktion durch das RHS stattzufinden, ohne daß sich jedoch hierbei eine vollständige restitutio ad integrum einstellen dürfte. Dieser unvollständige Ausgleich der Milzfunktion ist auch die Erklärung dafür, daß sich bei den entmilzten Mäusen in der chronischen Versuchsphase eine relativ hohe persistierende Parasitämie entwickelt, die vom Organismus des Wirtstieres offensichtlich nur in begrenztem Maße unter Kontrolle gehalten werden kann.

Klinisches Verhalten und Mortalität bei der *Babesia musculi*-Infektion

Im Verlauf der durch *Babesia musculi* verursachten akuten Babesiose wurden vornehmlich bei entmilzten Mäusen häufig Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie festgestellt. Dieses Krankheitsbild war zum Zeitpunkt des höchsten Parasitenbefalles am stärksten ausgeprägt.

Damit unterscheidet sich die *Babesia musculi*-Infektion in ihrem Symptomenkomplex nicht oder nur unwesentlich von den übrigen Babesiosen insbesondere der *Babesia rodhaini*- und *Babesia microti*-Infektion.

Die Mortalitätsrate betrug bei entmilzten Mäusen 26%, bei nicht entmilzten 5%. Sie liegt damit in einer ähnlichen Größenordnung wie bei *Babesia microti*-Infektionen (IRVIN und BROCKLESBY, 1969; COX und YOUNG, 1969). Eine eindeutige Differenz in der Höhe der Mortalität besteht gegenüber der *Babesia rodhaini*-Infektion, die je nach Virulenz des verwendeten Parasitenstammes bis zu annähernd 100% betragen kann (PAGET et al., 1962; COX und YOUNG, 1969).

Der Einfluß der *Babesia musculi*-Infektion auf die Erythrozytenzahl und den Hämoglobingehalt.

Es besteht eine klare Abhängigkeit zwischen Höhe der Parasitämie, Erythrozytenzahl und Hämoglobinwert. Bei nicht entmilzten Mäusen verringerte sich die Zahl der roten Blutkörperchen und der Hämoglobingehalt stets weniger stark als bei entmilzten Mäusen, die regelmäßig einen stärkeren Parasitenbefall zeigten.

Die niedrigsten Erythrozyten- und Hämoglobinwerte lagen bei nicht entmilzten Mäusen bei annähernd 5 Mill./mm³ bzw. 11 g%, während die entsprechenden Werte bei entmilzten Mäusen 1.7 Mill./mm³ und 4,7 g% betrugen. Sie stimmen damit weitgehend mit den Werten bei *Babesia rodhaini*- und *Babesia microti*-Infektionen in Mäusen überein (van den BERGHE et al., 1950; SHORTT und BLACKIE, 1965). Die Minimalwerte von Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt fielen nicht mit dem Höhepunkt der Parasitämie zusammen, sondern wurden bei nicht entmilzten Mäusen 8 Tage, bei entmilzten Mäusen 14 Tage danach festgestellt. Diese Tatsache läßt sich dadurch erklären, daß die roten Blutkörperchen nicht ausschließlich durch den Parasiten zerstört werden - es müßten sonst Maximum der Parasitämie und Minimum der Erythrozytenzahl gleichzeitig auftreten - sondern auch andere Noxen im Zusammenhang mit der Parasitose den Erythrozytenverlust bedingen. So machen NEITZ (1938) und JAQUIN (1963) Toxine, die durch den Zerfall parasitierter Erythrozyten frei werden, für die Erythrolyse verantwortlich. SCHROEDER und RISTIC (1968) vermuten, daß die von den Parasiten befallenen roten Blutkörperchen in der Weise verändert werden, daß sie von immunologisch kompetenten Zellen nicht mehr als arteigen anerkannt werden, so daß es zu einer Antikörperbildung gegen die Erythrozyten kommt. Die Auto-Antikörper opsonieren schließlich nicht nur babesieninfizierte, sondern auch andere Erythrozyten, wodurch es zu einer vermehrten Erythrozytenphagozytose kommt.

Der Zeitpunkt des tiefsten Standes der Erythrozytenzahl und des Hämoglobinwertes war bei der Gruppe der entmilzten Mäuse um 8 Tage verlängert gegenüber der Gruppe der nicht entmilzten Mäuse. Eine Erklärung hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß im intakten Organismus geschädigte Erythrozyten und eventuell im Blut zirkulierende Toxine schnell durch die Milz und das übrige RHS eliminiert werden können. Beim Fehlen der Milz benötigt dieser Vorgang auch bei einer Hyperplasie des RHS und einer dadurch bedingten teilweisen Kompensation der Milzfunktion zweifellos eine längere Zeit. Nach dieser Hypothese wäre bei der Gruppe der nicht entmilzten Mäuse die Eliminierung der zur Hämolyse führenden Stoffe früher abgeschlossen als bei der Gruppe der entmilzten Mäuse. Damit wäre auch der Höhepunkt der Hämolyse in der ersten Gruppe und die damit verbundene tiefste Erythrozytenzahl früher erreicht als bei der Gruppe der entmilzten Versuchstiere. Die Zeitdifferenz beträgt aufgrund der Beobachtungen in meinen Versuchen annähernd 8 Tage.

Bei nicht entmilzten Mäusen war bei Versuchsende, d.h. 3 Monate nach der Infektion, eine weitgehende Normalisierung der Erythrozytenzahl und des Hämoglobinwertes eingetreten, während sich in der Gruppe der entmilzten Mäuse die entsprechenden Werte noch deutlich im pathologischen Bereich bewegten. Das unterschiedliche Verhalten beider Gruppen dürfte darin zu suchen sein, daß mit Unterstützung der Milz das haemopoetische System wesentlich leistungsfähiger ist als in einem Organismus, dem die Milz fehlt. Die Folgerung davon ist, daß bei den entmilzten Mäusen mit hohem persistierenden Parasitenbefall der Erythrozytenverlust nur in ungenügendem Maße durch das RHS ausgeglichen werden kann.

Einfluß der Splenektomie auf die latente *Babesia musculi*-Infektion

Die Entmilzung von Mäusen, die eine akute Babesiose - hervorgerufen durch *Babesia musculi* - überlebt hatten, führte ausnahmslos zu einem erneuten Anstieg der Parasitämie. Die Tiere zeigten zum Zeitpunkt der Splenektomie einen Parasitenbefall von durchschnittlich 5%, der sich in 13 Tagen auf eine Höhe von 460% entwickelte. Nach dem Absinken der Parasitämie blieb eine persistierende Parasitenzahl von ungefähr 140% bestehen.

Damit unterschied sich das Infektionsverhalten dieser Versuchsgruppe nur geringfügig von jener, die 1 Woche vor der Infektion entmilzt wurde. Ein direkter Vergleich beider Gruppen ist jedoch nicht möglich, da wahrscheinlich bei der erstgenannten Gruppe zum Zeitpunkt der Splenektomie eine höhere Parasitenmenge im Einzeltier vorlag als bei den entmilzten Mäusen im Inokulum verabreicht wurde. Der Versuch läßt dagegen klar erkennen, daß die Prämunität, die bei den Mäusen mit dem persistierenden Parasitenbefall zum Zeitpunkt der Splenektomie sicherlich ausgebildet war, nicht ausreichte, den durch die Exstirpation der Milz bedingten Anstieg des Parasitenbefalles zu unterdrücken.

Prüfung der Virulenz von *Babesia musculi* in fortgesetzten Passagen

Die Untersuchung der Virulenz von *Babesia musculi* im Laufe von 26 Passagen ergab keinen Hinweis auf eine Virulenzsteigerung während dieser Zeit. Die durchschnittliche Befallsdichte bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen lag bis zur 13. Passage am Stichtag (Tag der Übertragung) bei durchschnittlich 4%. Im Gegensatz hierzu hatte die Parasitenzahl in der 14. - 26. Passage zum gleichen Zeitpunkt nur noch einen Durchschnittswert von 1,5%. Neben dieser Verminderung des

Babesienbefalles war auch eine verlängerte Präpatenzzeit sowie eine geringgradige Verringerung der Mortalitätsrate festzustellen.

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt, daß hinsichtlich der verlängerten Präpatenzperiode, der Höhe des Parasitenbefalles und des Zeitpunktes der größten Befallsdichte im Laufe der letzten Passagen eine abnehmende Tendenz bestand. Die Versuche lassen trotz der begrenzten Passagezahl den Schluß zu, daß bis zur 26. Passage eine geringgradige Virulenzschwächung von *Babesia musculi* eintrat. Dafür sprechen auch die Untersuchungsergebnisse an den größeren Mäusekollektiven, die mit Infektionsmaterial der 0-, 5.-, 11.-, 17.-, 23.- und 25. Passage infiziert wurden. Auch in diesen großen Versuchsgruppen verminderten sich die Maxima der Parasitämie bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen bei zunehmender Passage. Eine Virulenzsteigerung, wie sie bei *Babesia rodhaini* beobachtet wurde (PAGET et al., 1962; COX und YOUNG, 1969), obwohl es sich hierbei um eine wesentlich größere Anzahl von Passagen handelte, trat somit bei *Babesia musculi* nicht auf. Das Verhalten der Parasiten scheint in dieser Hinsicht mehr Ähnlichkeit mit *Babesia microti* zu haben, bei der sich im Laufe der Passagen ebenfalls keine deutliche Virulenzveränderung einstellt (IRVIN und BROCKLESBY, 1969).

Wirtsspezifität

In meinen Versuchen zeigte sich, daß Meerschweinchen und Laboratoriumsratten unempfindlich für *Babesia musculi* waren. Das kurzfristige Vorkommen des Parasiten im peripheren Blut der Ratte deutet zwar auf eine gewisse Empfänglichkeit hin. Gegen diese Annahme spricht jedoch die Tatsache, daß Babesien nur sehr kurze Zeit im Blut der Ratte nachweisbar waren, daß eine Erhöhung der Parasitenzahl nicht festzustellen war, und daß auch nach dem Verschwinden von *Babesia musculi* aus dem

peripheren Blut der Rückübertragungsversuch auf empfängliche Mäuse negativ verlief.

Diese Befunde lassen mit großer Wahrscheinlichkeit darauf schließen, daß es sich bei den im Rattenblut nachgewiesenen Babesien um Parasiten handelte, die in toto mit den roten Blutkörperchen des Spendertieres bis zum Abbau der Fremd-Erythrozyten im Blutkreislauf zirkulierten.

Im Gegensatz hierzu erwiesen sich der Goldhamster und die Wüstenspringmaus als empfängliche Wirte - wobei allerdings die Empfänglichkeit bei der letztgenannten Tierart nur an einem einzigen Versuchstier geprüft werden konnte. In beiden Tierarten war eine starke Parasitenvermehrung zu beobachten. Nach der akuten Phase blieben die Hamster lange Zeit latent infiziert.

Damit konnte das Wirtsspektrum, das MURATOV (1966) von der Hausmaus ausgehend auf die Laboratoriumsmaus und das Erdhörnchen ausgedehnt hatte, um zwei weitere Tierarten vergrößert werden.

Die Chemotherapie der *Babesia musculi*-Infektion

Von 18 geprüften Verbindungen zeigten Imidocarb und Berenil in meinen Untersuchungen eine gute Wirksamkeit gegenüber *Babesia musculi*. Beide Pharmaka eigneten sich ausgezeichnet zur kurativen Behandlung der Infektion und führten nach entsprechender Dosierung zu einem schnellen Verschwinden der Parasiten aus dem peripheren Blut des Wirtes. Mit keiner der beiden Verbindungen war jedoch eine Sterilisatio magna zu erreichen. Trotz hoher Dosierungen kam es regelmäßig und bei allen infizierten Mäusen 11 - 16 Tage nach der letzten Applikation des Mittels zu Rückfällen mit hohem Parasitenbefall.

SCHMIDT et al. (1969) und BEVERIDGE (1969) kamen bei der Prüfung von Imidocarb bei der *Babesia rodhaini*-Infektion zu einem ähnlichen Ergebnis. Imidocarb führte ebenfalls zu einem raschen kurativen Erfolg. Leider geben die Untersuchungen beider

Autoren keinen Aufschluß, ob durch die Behandlung eine Sterilisatio magna bewirkt wurde. Rückfälle - wie sie in meinen Untersuchungen stets auftraten - wurden jedenfalls in den Arbeiten von SCHMIDT et al. (1969) und BEVERIDGE (1969) nicht erwähnt. Der direkte Vergleich zwischen der Wirkung von Imidocarb auf die *Babesia rodhaini*- und die *Babesia musculi*-Infektion zeigt, daß die Chemoresistenz von *Babesia rodhaini* gegenüber dieser Verbindung geringer ist als die von *Babesia musculi*. Diese Vermutung drängt sich vor allem deshalb auf, weil BEVERIDGE (1969) ein Verschwinden von *Babesia rodhaini* aus dem peripheren Blut schon bei einer einmaligen Verabreichung von 30 mg/kg erreichte, ohne daß es hierbei zu Rückfällen kam, während in meinen Versuchen auch mit einer Dosierung von 33 mg/kg und selbst mit einer Gesamtdosis von 132 mg/kg Rückfälle nicht verhindert werden konnten.

Auch Berenil zeigte in meinen Versuchen einen guten kurativen Effekt gegenüber *Babesia musculi*-Infektionen, wobei es jedoch ebenfalls zu Rückfällen kam.

TAYLOR et al. (1956) hatten Berenil bei *Babesia rodhaini*-Infektionen geprüft und gute kurative Ergebnisse erzielt. Ihre Untersuchungen geben allerdings keinen Aufschluß darüber, ob sich nach der Behandlung Prämunition einstellte oder ob Rückfälle auftraten.

Acaprin hatte, abgesehen von einer kurzfristigen, geringgradigen Verminderung der Parasitenzahl, keinen Einfluß auf die *Babesia musculi*-Infektion. *Babesia musculi* erwies sich damit auch Acaprin gegenüber wesentlich resistenter als *Babesia rodhaini*, die erfolgreich mit diesem Mittel behandelt werden konnte (BEVERIDGE, 1953; RILEY, 1957).

Auch durch Terramycin und Homidium bromide konnten *Babesia musculi*-Infektionen nicht beeinflußt werden, obwohl beide Mittel *Babesia rodhaini* gegenüber gute Wirksamkeit zeigten (BEVERIDGE, 1953; TAYLOR et al., 1956).

Verschiedene Antimalariamittel wie Resochin, Atebrin und Plasmochin blieben ohne Wirkung auf die *Babesia musculi*-Infektionen, eine Erfahrung, die auch TAYLOR et al. (1956) und RYLEY (1957) mit den genannten Mitteln bei *Babesia rodhaini*-Infektionen machten.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Infektionsverlauf von *Babesia musculi* wurde an 80 nicht entmilzten und 80 entmilzten Mäusen untersucht. Die Infektionsdosis betrug 1 Million parasitierter Erythrozyten pro Maus, die Beobachtungszeit pro Versuchsgruppe 12 Wochen.
2. Bei nicht entmilzten und entmilzten Mäusen dauerte die Präpatenzzeit 2 - 4 Tage und der Zeitpunkt der höchsten Parasitämie 18 Tage. Das Maximum der Befallshöhe hatte bei nicht entmilzten Mäusen einen Wert von 320%, bei entmilzten Mäusen von 470%.
Während der Beobachtungszeit wurde bei nicht entmilzten Mäusen ein persistierender Parasitenbefall von 15%, bei entmilzten von 150% festgestellt.
3. Die Minima der Erythrozytenzahl lagen bei nicht entmilzten Mäusen bei 5.1 Mill./mm³, der Hämoglobingehalt bei 11,4 g%. Bei entmilzten Mäusen hatte die niedrigste Erythrozytenzahl einen Wert von 1.7 Mill./mm³ und der Hämoglobingehalt von 4,7 g%.
4. Als charakteristische Symptome einer schweren *Babesia musculi*-Infektion traten Inappetenz, Apathie, Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie auf.
5. Im chronischen Stadium der Krankheit wurde bei den Versuchstieren eine hochgradige Splenomegalie mit einer Erhöhung der Normalwerte der Milz um das 2 - 3fach festgestellt.
6. Die Mortalität hatte bei nicht entmilzten Mäusen einen Wert von 5%, bei entmilzten Mäusen von 26%.
7. Bei Anwendung verschiedener Applikationsarten von *Babesia musculi* war ein ähnlicher Krankheitsverlauf in der Gruppe der s.c.- und i.m.-infizierten Tiere und in der

Gruppe der i.p.- und i.v.-infizierten Tiere zu beobachten. In der ersten Gruppe verlief die Infektion wesentlich protrahierter als in der Vergleichsgruppe.

8. Die Splenektomie von schwach infizierten Mäusen bewirkte ausnahmslos einen schnellen und starken Anstieg des Parasitenbefalles.
9. Im Laufe von 26 Passagen wurde eine geringgradige Virulenzschwächung von *Babesia musculi* beobachtet.
10. Von 18 verschiedenen chemischen Verbindungen erwiesen sich Berenil und Imidocarb als einzige wirksame Pharmaka. Eine Sterilisatio magna konnte mit keinem der Mittel erreicht werden. Bei allen Versuchstieren wurden Rückfälle beobachtet.
11. Die Übertragung von *Babesia musculi* gelang auf den Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) und die Wüstenspringmaus (*Jaculus jaculus*). Meerschweinchen und Laboratoriumsratte waren nicht empfänglich.

SUMMARY

1. The progress of an infection with *Babesia musculi* was examined on 80 non-splenectomized and 80 splenectomized mice. The dose of infection was in all cases one million parasitized erythrocytes per mouse.
2. The prepatent period (2 - 4 days) and the time when the infection reached its greatest density (Ø 18 day p.i.) were the same in both test groups. The maximum number of parasites, however, varied. With the non-splenectomized mice it was Ø 320%, with the splenectomized mice Ø 470%. During 3 months of observation there was a persistent parasitaemia of non-splenectomized mice of Ø 15% and of splenectomized ones with Ø 150%.
3. With the non-splenectomized mice the minimum of erythrocytes was Ø 5.1 mill./mm³ and of hemoglobin Ø 11,4 g%. With the splenectomized mice the minimum of erythrocytes was Ø 1.7 mill./mm³ and of hemoglobin Ø 4,7 g%.
4. The characteristic symptoms of a severe *Babesia musculi* infection were inappetence, apathy, anemia, icterus and hemoglobinuria.
5. In the chronical phase of *Babesia musculi* infection most of the experimental animals showed splenomegaly. The spleen was enlarged more than twice.
6. Of non-splenectomized mice the value of mortality run up to 5%, of splenectomized ones 26%.
7. As regards the different ways in which *Babesia musculi* was applied, there was a similar course of infection in the group of animals after a subcutaneous and an intramuscular injection as in the group of animals after an intraperitoneal and an intravenous injection. In the first group of animals the infection developed much more retarded

than in the other group of animals.

8. The splenectomy of latent infected mice without exception caused a rapid and strong increase of parasitaemia.
9. There was an insignificant attenuation of virulence of *Babesia musculi* during 26 passages in mice.
10. In chemotherapy with 18 different chemical compounds only Berenil and Imidocarb had clearly noticeable influence on the *Babesia musculi* infection. It was impossible to achieve a sterilisatio magna. Recidivism in all experimental animals were observed.
11. The transmission of *Babesia musculi* was successful in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) and in desert-jirds (*Jaculus jaculus*). Guinea-pigs and laboratory-rats were not susceptible of *Babesia musculi*.

E. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bafort, J.M., Timperman, G.,
Molyneux, D.H. Babesia hyalomysci n.sp.,
a new Babesia from Congo,
transmissible to mice.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 50, 301 (1970)
2. Becker, E.R., Roudabush, R.L. Trypanosoma iowensis n.sp.
and Babesia citelli n.sp.
from Citellus tridecemline-
atus, and Trypanosoma hixsoni
n.sp. from Citellus franklini.
Iowa St.Col.J.Sci. 5, 527(1934)
3. Berghe, L. van den, Vincke,
I.H., Chardome, M., Bulcke,
M. van den Babesia rodhaini n.sp. d'un
rongeur du Congo belge trans-
missible à la souris blanche.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 30,
83 (1950)
4. Beveridge, E. Babesia rodhaini: A useful
organism for the testing of
drugs designed for the treat-
ment of piroplasmosis.
Ann.trop.Med.Parasit. 47,
134 (1953)
5. Beveridge, E. The activity of Phenanthridine
compounds against Babesia rod-
haini in mice.
Ann.trop.Med.Parasit. 50,
85 (1956)
6. Beveridge, E. Babesicidal effect of basi-
cally substituted carbanilides.
II. Imidocarb in rats and mice:
Toxicity and activity against
Babesia rodhaini.
Res.Vet.Sci. 10, 534 (1969)
7. Carini, A. Piroplasmidae do sangue de um
roedor do Brasil.
Arch.Biol.S.Paulo 25, 71 (1941)
8. Colas-Belcour, J.,
Vervent, G. Quelques observations sur des
souris ayant survécu à leur in-
fection par Babesia (Nuttallia)
rodhaini van den Berghe, Vincke,
Chardome et van den Bulcke 1950.
Bull.Soc.Path.exot. 46, 34 (1953)

19. Ersek, R.A. Murine Splenectomy.
Amer.J.vet.Res. 29, 3, 755(1968)
20. Fantham, H.B. "Piroplasma muris, n.sp.". Note
on a microscopic exhibit.
Proc.zool.Soc.London 2, 491(1905)
21. Fantham, H.B. Piroplasma muris, Fant. from the
blood of the white rat with re-
marks on the genus Piroplasma.
Quart.J.micr.Sci. 50, 493 (1906)
22. Fitzpatrick, J.E.P.,
Kennedy, C.C., McGeown,
M.G., Oreopoulos, D.G.,
Robertson, J.H., Soyannwo,
M.A.O. Human case of piroplasmosis
(Babesiosis).
Nature 217, 861 (1968)
23. Flewett, T.H., Fulton, J.D. Relationship of Babesia rodhaini
to the host erythrocyt.
Ann.trop.Med.Parasit. 53, 501
(1959)
24. Franca, C. Sur la classification des piro-
plasmes et description des deux
formes de ces parasites.
Inst.Roy.Bact.C.Pestana 3, 11
(1910)
25. Franchini, G. Piroplasmose chez un petit loir
(Myoxus avellarius).
Bull.Soc.Path.exot. 17, 881
(1924)
26. Galli-Valerio, B. Notes de parasitologie.
Zbl.Bakt.,l.Abt.Orig. 115,
212 (1930)
27. Garnham, P.C.C., Bray, R.S. The susceptibility of the higher
primates to piroplasma.
J.Protozool. 6, 352 (1959)
28. Garnham, P.C.C., Pierce,
A.E., Roitt, I. Immunity to Protozoa.
Blackwell scientific Publications,
Oxford 160 (1963)
29. Garnham, P.C.C., Donnelly,
J., Hoogstraal, H., Kennedy,
C.C., Walton, G.A. Human Babesiosis in Ireland.
Further observations and the me-
dical significance of the infec-
tion.
Brit.med.J. 4, 768 (1969)

30. Garnham, P.C.C. The role of the spleen in protozoal infections special reference to splenectomy.
Acta trop. 27, 1 (1970)
31. Gayot, G. Infection experimentale du chacal par piroplasma canis.
Arch.Inst.Pasteur Algèr. 24, 46 (1946)
32. Gleason, N.N., Healy, G.R., Western, K.A., Benson, G.D., Schultz, M.G. The "Gray" Strain of Babesia microti from a human case established in laboratory animals.
J.Parasit. 56, 1256 (1970)
33. Gourlay, R.N., Brocklesby, D.W., Sellwood, S.A. Disc electrophoresis as an aid in the identification of piroplasms.
Vet.Rec. 86, 629 (1970)
34. Hahn, P.F. Peritoneal absorption.
J.exp.Med. 80, 77 (1944)
35. Heisch, R.B. New piroplasms of a genet cat and a ground squirrel from Kenya.
Ann.trop.Med.Parasit. 46, 150 (1952)
36. Hirschfeld, H., Fabisch, W. Splenektomie.
Folia haemat. 37, 262 (1928)
37. Hoefer, P.A. Über ein unbekanntes Protozoon in menschlichem Blute bei einem Falle von Anämie.
Zbl.Bakt., I.Abt.Orig. 55, 19 (1910)
38. Irvin, A.D., Brocklesby, D.W. Continuous high parasitaemia in mice infected with Babesia (Nuttallia) microti.
J.Parasit. 55, 1190 (1969)
39. Jaquin, M. Contribution à l'étude de la symptomatologie et du diagnostic des formes atypiques de la piroplasmose canine.
These, D'Alfort (1963)
40. Kikuth, W. Piroplasmose beim Affen.
Arch.Schiffs- u. Tropenhyg. 31, 37 (1927)

41. Leger, M., Bedier, E. Piroplasma d'un murid , *Golunda campanae*, du Sénégal.
C.R.Soc.Biol. 88, 424 (1923)
42. Levine, N.D. Protozoan Parasites of domestic animals and of man.
Burgess Publishing Comp., Minneapolis (1961)
43. Levine, N.D. Taxonomy of the piroplasms.
Trans.Amer.micros.Soc. 90, 2 (1971)
44. Lucas, J.M.S. The chemotherapy of experimental Babesiosis in mice and splenectomized calves.
Res.Vet.Sci. 1, 218 (1960)
45. Macfie, J.W.S. A piroplasm, *Nuttallia decumani*, n.sp. of the brown rat (*Mus decumanus*).
Ann.trop.Med.Parasit. 9, 457 (1915)
46. Macmillan, W.G., Brocklesby, D.W., Irvin, A.D. The fine structure of *Babesia microti*.
Progr.Protozool.(Leningrad) 3, 65 (1969)
47. Macmillan, W.G., Brocklesby, D.W. The fine structure of intra-erythrocytic stages of *Nuttallia (Babesia) microti*.
Res.Vet.Sci. 12, 185 (1971)
48. Manwell, R.D., Kuntz, R.E. A new *Babesia* from the Indian bandicoot.
J. Parasit. 50, 390 (1964)
49. Molyneux, D.H., Bafort, J.M. The fine structure of *Babesia microti* in the natural host, *Microtus agrestis*.
Z.Tropenmed.Parasit. 21, 393 (1970)
50. Muratov, E.A. Blood parasite of the house mouse (*Mus musculus* Lin.) belonging to the genus *Nuttallia franca*.
Doklady an Tadzhikskoi SSR 9 (5), 34 (1966) (in englischer  bersetzung)

51. Nadyrov, S.A. Development of *Nuttallia musculi* in the vertebrate host.
(Institute of Zoology and Parasitology of the Academy of Science of the Uzbek S.S.R., Tashkent, U.S.S.R.)
(in englischer Übersetzung)
52. Neitz, W.O. The destruction of *Piroplasma canis* by the neutrophils and large mononuclear leucocytes.
Onderstepoort J.vet.Res. 10, 33 (1938)
53. Neitz, W.O., Steyn, H.P. The transmission of *Babesia canis* (Piana and Galli-Valerio, 1895) to the blackbacked jackal (*Thos. mesomelas* Schreiber) with a discussion on the classification of the piroplasma of the canidae.
J.S.Afr.vet.med.Ass. 18, 1 (1947)
54. Nicolle, C. Sur une piroplasmose nouvelle d'un rongeur.
C.R.Soc.Biol. 63, 213 (1907)
55. Nöller, H.G. Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus.
Klin.Wschr. 33, 770 (1955)
56. Nowell, F. The blood picture resulting from *Nuttallia* (*Babesia*) *rodhaini* and *Nuttallia* (*Babesia*) *microti* infections in rats and mice.
Parasitology 59, 991 (1969)
57. Nuttal, G.H.F. and Graham-Smith, G.S. Note on attempts to infect the fox and the jackal with *Pitoplasma canis*.
Parasitology 2, 211 (1909)
58. Paget, G.E., Alcock, J., Ryley, J.F. The pathology of *Babesia rodhaini* infections in mice.
J.Path.Bact. 84, 218 (1962)
59. Phillips, R.S. *Babesia rodhaini* infections in the rat after the acute primary parasitaemia.
Parasitology 59, 349 (1968)
60. Phillips, R.S. The role of the spleen in relation to natural and acquired immunity to infections of *Babesia rodhaini* in the rat.
Parasitology 59, 637 (1969)

61. Reichenow, E. Lehrbuch der Protozoenkunde.
6th ed. Fischer, Jena (1953)
62. Ristic, M. Babesia species from an intact
(spleen in situ) human case of
Babesiosis:
Isolation and definition of patho-
genic, serologic, and ultrastruc-
tural properties.
Second Intern. Congr. Parasitol.,
Washington (1970)
63. Ristic, M., Conroy, J.D.,
Siwe, S., Healy, G.R.,
Smith, A.R., Huxsoll, D.L. Babesia species isolated from a
woman with clinical babesiosis.
Amer. J. trop. Med. Hyg. 20, 14 (1971)
64. Rodhain, J. Sur la pluralité des espèces de
Babesia des rongeurs. A propos de
la spécificité de Babesia rodhaini
van den Berghe et al.
Ann. Inst. Pasteur 79, 777 (1950)
65. Rodhain, J. Essais de chimiothérapie chez les
souris infectées de Babesia rod-
haini.
Rev. belge Path. 21, 129 (1951)
66. Rodhain, J. Demuylder, Ch. L'hémoglobinurie des rongeurs in-
fectés de Babesia rodhaini.
Ann. Soc. belge Méd. trop. 31,
551 (1951)
67. Rousselot, R. Parasites du sang de divers ani-
maux de la région de Teheran.
Arch. Inst. Hessarek 5, 62 (1947)
68. Rousselot, R. Piroplasma Lemniscomysi, n.sp.
Ann. Parasit. 24, 409 (1949)
69. Rousselot, R. Notes de Parasitologie Tropicale.
Vol. 1. Parasites du sang des ani-
maux (Système Réticuloendothélial).
Vigot Frères, Paris 152 pp. (1953)
70. Rudzinska, M.A., Trager, W. The fine structure of Babesia
rodhaini.
J. Protozool. 7 (Suppl.), 11 (1960)
71. Rudzinska, M.A., Trager, W. Intracellular phagotrophy in Ba-
besia rodhaini as revealed by
electron microscopy.
J. Protozool. 9 (3), 279 (1962)

72. Ryley, J.R. The chemotherapy of Babesia infections.
Ann.trop.Med.Parasit. 51, 38 (1957)
73. Schmidt, G., Hirt, R., Fischer, R. Babesiadical effect of basically substituted carbanilides.
I. Activity against Babesia rodhaini in mice.
Res.Vet.Sci. 10, 530 (1969)
74. Scholtens, R.G., Braff, E.H., Healy, G.R., Gleason, N.N. A case of babesiosis in man in the United States.
Amer.J.Trop.Med.Hyg. 17, 810 (1968)
75. Schoop, G.V., Dedie, K. Übertragung von Babesia canis auf Füchse.
Dtsch.tierärztl.Wschr. 46, 88 (1938)
76. Schroeder, W.F., Cox, H.W., Ristic, M. Anaemia, parasitaemia, erythrophagocytosis, and haemagglutinins in Babesia rodhaini infection.
Ann.trop.Med.Parasit. 60, 31 (1966)
77. Schroeder, W.F., Ristic, M. Autoimmune response and pathogenesis of blood parasite disease.
In: D.Weinman, M. Ristic: Infectious blood diseases of man and animals.Vol.I: Special topics and general characteristics 63,
Academic Press, New York, London (1968)
78. Schwetz, J., Collart, A. Notes on protozoa found in the blood of rats and mice in the district of Lake Albert.
Trans.roy.Soc.trop.Med.Hyg. 23, 529 (1930)
79. Shortt, H.E., Blackie, E.J. An account of the genus Babesia as found in certain small mammals in Britain.
J.trop.Med.Hyg. 68, 37 (1965)
80. Skrabalo, Z. Deanovic, Z. Piroplasmosis in man.
Docum.Med.geogr.trop. 9, 11 (1957)

81. Sprinholz-Schmidt, A.J. *Nuttallia cricetuli* n.sp. parasite du sang du hamster danois *Cricetulus furunculoides*.
Zool.Anz. 314 (1937)

82. Sprinholz-Schmidt, A.J. Zur Frage der Blutparasiten der Nagetiere im Fernen Osten.
Arch.Protistenk. 88, 445 (1937)

83. Taylor, A.E.R., Terry, R.J., Godfrey, D.G. The action of some trypanocidal and antimalarial compounds on *Babesia rodhaini* (Piroplasmidae).
Brit.J.Pharmacol. 11, 71 (1956)

84. Tomlinson, T.H. jr., Smith, S. C., Fogg, V.H. A piroplasm, *Babesia wrighti*, n.sp. from the rock squirrel (*Citellus variegatus buckleyi*).
J.nat.Malar.Soc. 7, 254 (1948)

85. Vogelsang, E.G. "Die Prämunition".
Dtsch.tierärztl.Wschr. 69, 93 (1962)

86. Wenyon, C.M. Report of travelling pathologist and protozoologist, 3rd Report. III.Wellcome Trop.Res.Lab., Khartoum, pp. 121 (1909)

87. Western, K.A., Benson, G.D., Gleason, N.N., Healy, G.R., Schultz, M.G. Babesiosis in Massachusetts resident.
New Engl.J.Med. 283, 854 (1970)

88. Zasukhin, D. Material zum Studium der Blutparasiten der Nager im Süd-Osten von R.S.F.S.R.
II. Mitteilung: Blutparasiten des *Citellus pygmaeus* Pallas.
Arch.Protistenk. 75, 135 (1931)

Herrn Univ. Doz. Dr. H.K. Dennig
möchte ich besonders herzlich für
die Überlassung des Themas und
seine freundliche Hilfe danken.

Frau Hartung und Fräulein Denk
danke ich an dieser Stelle für
die bereitwillig gewährte tech-
nische Unterstützung.

G. LEBENS LAUF

Am 18. Oktober 1942 wurde ich, Marie-Luise Nagel, als jüngstes Kind des Arztes Dr. med. Hans Nagel und seiner Ehefrau Viktoria, geb. Kemper, in Walsrode geboren. Nach der Reifeprüfung, die ich am 13.2.1963 am Walsroder Gymnasium ablegte, besuchte ich für 2 Jahre eine staatliche Schule für med.-techn. Assistentinnen in Heide/Holstein. Nach dem Staatsexamen arbeitete ich 2 Jahre als med.-techn. Assistentin in Berlin und Tübingen.

Im Herbst 1967 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät München, wo ich am 25.10.1972 das Staatsexamen bestand. Die Bestallung als Tierärztin erhielt ich am 22.11.1972.

